

Luminiscenční vlastnosti inkoustů

Bc. Tomáš Hasík

Diplomová práce
2015



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta aplikované informatiky

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Tomáš Hasík**
Osobní číslo: **A13737**
Studijní program: **N3902 Inženýrská informatika**
Studijní obor: **Bezpečnostní technologie, systémy a management**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Luminiscenční vlastnosti inkoustů**
Téma anglicky: **The Luminiscent Properties of Inks**

Zásady pro vypracování:

1. Nastudujte problematiku a techniky luminiscence tekutých/pevných vzorků.
2. Pojednejte o forezních vědách v souvislosti s tématem práce.
3. Navrhněte experiment měření luminiscenčních vlastností vybraných inkoustů.
4. Analyzujte a interpretujte vhodně získaná data.
5. Vyhodnoťte vhodnost použití zvolené metody.
6. Stručně nastiňte možnosti aplikace luminiscenční spektroskopie ve forenzice.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

1. LAKOWICZ, Joseph R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. New York: Springer, 2006. ISBN 978-0-387-31278-1.
2. PELANT, Ivan a VALENTA, Jan. Luminiscenční spektroskopie. Praha: Academia, 2006. ISBN 80-200-1447-0.
3. PELANT, Ivan a VALENTA, Jan. Luminiscenční spektroskopie II. Praha: Academia, 2010. ISBN 978-80-200-1846-5
4. HOLLAS, Michael J. Modern Spectroscopy. Chichester: Wiley, 2004. ISBN 0-470-84416-7.
5. MALÝ, Petr. Optika. Praha: Karolinum, 2014. ISBN 978-80-246-2246-0.
6. GANGJIN, Ding; FENG, Gao; GUANGHENG, Wu; DINGHUA, Bao. Bright up-conversion green photoluminescence in Ho³⁺-Yb³⁺ co-doped Bi₄Ti₃O₁₂ ferroelectric thin films. Journal of Applied Physics 109(2011), 123 101.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. et Ing. Kateřina Sulovská
Ústav bezpečnostního inženýrství

Datum zadání diplomové práce:

12. ledna 2015

Termín odevzdání diplomové práce:

15. května 2015

Ve Zlíně dne 6. února 2015



doc. Mgr. Milan Adámek, Ph.D.
děkan



doc. RNDr. Vojtěch Křesálek, CSc.
ředitel ústavu

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k prezenčnímu nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen v příruční knihovně Fakulty aplikované informatiky Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- beru na vědomí, že podle § 60 odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen připouští-li tak licenční smlouva uzavřená mezi mnou a Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně s tím, že vyrovnání případného přiměřeného příspěvku na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše) bude rovněž předmětem této licenční smlouvy;
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na diplomové/bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně

.....
podpis diplomanta

ABSTRAKT

Cílem této diplomové práce je seznámení s problematikou luminiscenční spektroskopie, luminiscenčních vlastností inkoustů a možnosti jejich měření a využití. V teoretické části je podrobně popsán jev luminiscence a s ním spojené úkazy, základní rozdělení a vlastnosti inkoustů a metody jejich aplikace ve forenzních vědách. V praktické části je pak navržen experiment pro měření výše zmíněných jevů a vlastností vybraných kapalných inkoustů. Naměřená data jsou následně vyhodnocena a graficky interpretována. V závěru práce je pak pojednáno o možnostech aplikace zvolené metody měření.

Klíčová slova: inkousty, luminiscence, spektroskopie, elektromagnetické spektrum, forenzní vědy

ABSTRACT

The aim of this thesis is to introduce luminescence spectroscopy, luminescence properties of inks and possibilities of their measurement and use. In the theoretical part the phenomenon of luminescence and related phenomena are described in detail, primary distribution and properties of inks and methods of their application in forensic sciences. In the practical part there is an experiment designed to measure these phenomena and properties of selected liquid inks. The measured data are then evaluated and graphically interpreted. At the end of this thesis, the possibilities of application of the chosen method of measurement are discussed.

Keywords: inks, luminescence, spektroskopy, electromagnetic spectre, forensic science

Tímto bych chtěl poděkovat především Ing. et Ing. Kateřině Sulovské za její ochotu, cenné rady, návrhy, připomínky i celkový přístup, který vedl ke zdárnému dokončení této práce.

"Co tě nezabije, to tě posílí"

[Friedrich Nietzsche]

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 ELEKTROMAGNETICKÉ SPEKTRUM	11
1.1 VIDITELNÉ SVĚTLO.....	12
1.2 INFRAČERVENÉ ZÁŘENÍ	12
1.3 ULTRAFIALOVÉ ZÁŘENÍ.....	14
2 LUMINISCENCE	17
2.1 LUMINISCENČNÍ SPEKTROSKOPIE	18
2.1.1 Typy luminiscence	19
2.1.2 Rayleighův rozptyl	24
2.1.3 Luminiscence organických a anorganických látek	25
2.1.4 Využití luminiscence.....	26
3 INKOUSTY	28
3.1 ZÁKLADNÍ ROZDĚLENÍ	28
3.2 SLOŽENÍ INKOUSTU	29
3.2.1 Barvosná složka	29
3.2.2 Pojivo	31
3.3 INKOUSTY PRO PSACÍ NÁSTROJE	31
3.3.1 Tekuté/kapalné inkousty	32
3.3.2 Inkousty do kuličkových per	33
3.3.3 Fixy	34
4 APLIKACE VE FORENZICE	35
4.1 NEDESTRUKTIVNÍ METODY.....	35
4.1.1 Zkoumání pohledem.....	36
4.1.2 Zkoumání barev	37
4.1.3 Mikrospektrofotometrie	38
4.1.4 Ramanova spektroskopie	38
4.1.5 Ultrafialová a infračervená radiace	40
4.1.6 Výmazy	42
4.1.7 Zahlazení	43
4.1.8 Detekce infračerveného záření	45
4.1.9 Infračervená fluorescence	47
4.1.10 Ultrafialová fluorescence	50
4.2 DESTRUKTIVNÍ TECHNIKY	51
4.2.1 Chromatografie	52
4.2.2 Chromatografie na tenké vrstvě	52
4.2.3 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie – HPLC	54
II PRAKTICKÁ ČÁST	56
5 CÍL PRÁCE	57
6 METODY	58
6.1 MĚŘICÍ SOUSTAVA	58
6.1.1 Specifikace přístroje PC1	58
6.1.2 Schéma přístroje PC1	59

6.1.3	Kyveta	60
6.1.4	Další vybavení.....	61
6.2	POSTUP MĚŘENÍ.....	61
6.2.1	Nastavení PC1 – ISS	62
6.2.2	Volba emisních a excitačních spekter	62
6.2.3	Zacházení s tekutými vzorky	63
7	MATERIÁL	64
7.1	VOLBA INKOUSTŮ	64
8	VÝSLEDKY A DISKUZE	66
8.1	ZÍSKANÁ DATA	66
8.1.1	Nástroje a pomocné látky	66
8.1.2	Zkoumané vzorky.....	68
8.2	DISKUZE.....	71
8.2.1	Možnost aplikace metody ve forenzice	72
	ZÁVĚR	73
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	74
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	77
	SEZNAM OBRÁZKŮ	78
	SEZNAM GRAFŮ	79
	SEZNAM TABULEK.....	80
	SEZNAM PŘÍLOH.....	81

ÚVOD

Luminiscenční spektroskopie se v průběhu posledních asi šedesáti let změnila z převážně empirického bádání na obor s velmi solidním teoretickým fyzikálním základem. Nalézá široké uplatnění téměř ve všech vědních oborech. Tato práce se však soustředí především na její využití v oblasti forenzních. Pro tento účel bylo vybráno několik vzorků inkoustů, na kterých bylo měření luminiscence demonstrováno.

V teoretické části této práce je podrobně popsáno elektromagnetické spektrum, konkrétněji pak ta část, která souvisí se zkoumáním dokumentů a inkoustů ve forenzice. Další kapitola je potom věnována samotné luminiscenci, a to jak její charakteristice, rozdělení a využití, tak i přidruženým jevům. Následuje kapitola zaměřená na inkousty, ve které jsou dopodrobna rozebrány jejich vlastnosti, typologie, složení a psací nástroje. Okrajově pak i historie jejich vzniku a vývoje. V poslední kapitole teoretické části jsou popsány jednotlivé možnosti aplikace výše zmíněných jevů ve forenzních vědách, při kterých se využívají právě luminiscenční vlastnosti inkoustů a jejich složek. Jednotlivé metody jsou zde uvedeny jak z teoretického hlediska, tak i s praktickými příklady a ukázkami přímo z praxe. Všechny kapitoly jsou doplněny o ilustrace a obrázky pro lepší pochopení dané problematiky.

Cílem praktické části této diplomové práce je obeznámit čtenáře s praktickou aplikací výše zmíněných metod pro měření luminiscenčních vlastností vybraných inkoustů. Pro tyto účely byl navržen experiment, pro nějž byly shromážděny kapalné vzorky šesti různých inkoustů, které byly následně podrobeny měření na přístroji PC1, který je k dispozici v laboratoři na Fakultě aplikované informatiky UTB. Naměřené výsledky byly zpracovány do grafické podoby, vyhodnoceny a porovnány. V závěru praktické části je pak pojednáno o možnostech aplikace zvolené metody měření.

Výsledky této diplomové práce mohou sloužit jako podklad k dalšímu zkoumání této problematiky, nebo jako inspirace pro tvorbu souvisejících experimentů.

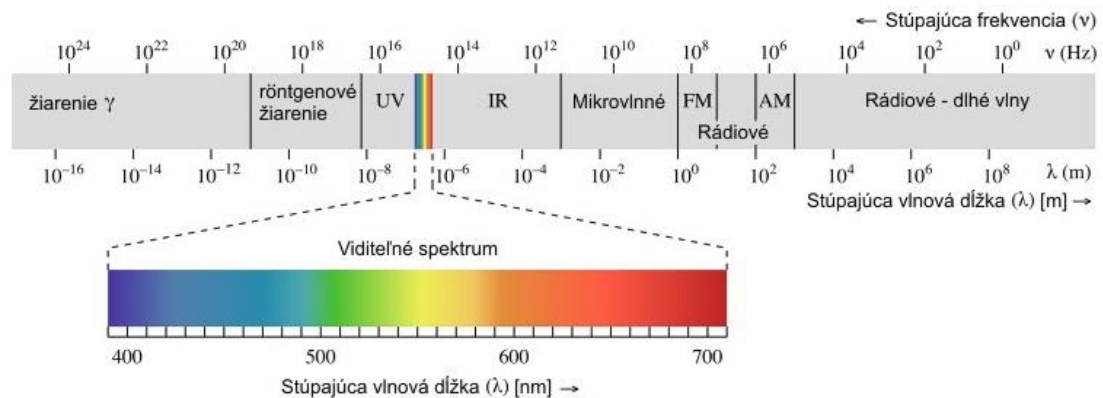
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ELEKTROMAGNETICKÉ SPEKTRUM

Elektromagnetické spektrum zahrnuje elektromagnetické záření o různé vlnové délce. Vlnová délka je označována jako λ (lambda) a měří se v délkových jednotkách. Elektromagnetické spektrum dostaneme roztríděním vlnových délek záření, které daný zdroj vydává, a zjištěním intenzity záření na těchto jednotlivých vlnových délkách, jak můžeme vidět na obrázku č. 1. [1]

Rozdělení elektromagnetického záření:

- ❖ gama záření (menší než 500pm)
- ❖ rentgenové záření (10nm – 0,1nm)
- ❖ ultrafialové záření (400nm – 10nm)
- ❖ viditelné světlo (400nm -700nm)
- ❖ infračervené záření (0,3mm – 750nm)
- ❖ mikrovlny (10^{-2} – 10^{-3} m)
- ❖ rádiové vlny (1 – 10^3 m)[1]

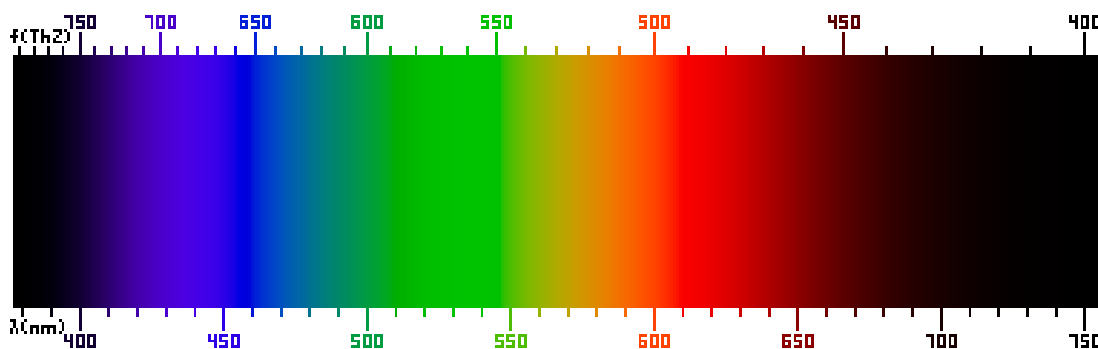


Obrázek 1 – Schéma elektromagnetického spektra [3]

Jeho zdrojem jsou například Slunce, žárovky, mikrovlnné trouby, mobilní telefony, televize, monitory, lasery, atd. Pro účely této práce se budeme dále zabývat hlavně viditelným spektrem, ultrafialovým a infračerveným zářením. [1]

1.1 Viditelné světlo

Viditelné světlo o vlnových délkách 400 - 800nm je ta část spektra, na kterou je citlivé lidské oko. Tato část elektromagnetického spektra se také označuje jako světelné spektrum. Jednotlivé barvy, vyskytující se ve světelném spektru, se nazývají spektrálními barvami a odpovídají jim určité intervaly vlnových délek elektromagnetického záření, jak je zobrazeno na obrázku č. 2. Tři základní vlastnosti světla, a elektromagnetického vlnění jako takového, jsou svítivost (amplituda), barva (frekvence) a polarizace (úhel vlnění). Kvůli dualitě částice a vlnění má světlo, respektive foton, vlastnosti jak vlnění, tak částice. Studium světla a jeho interakcemi s hmotou se zabývá optika. Viditelné světlo je absorbováno a emitováno elektrony v atomech a molekulách, když přecházejí mezi energetickými hladinami. [4]



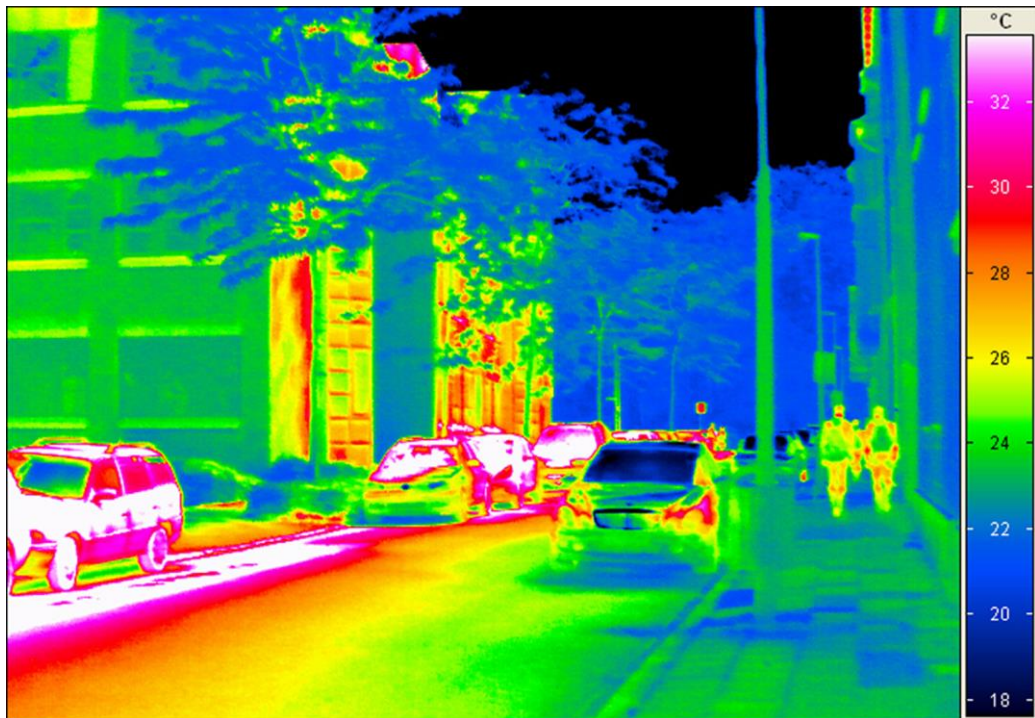
Obrázek 2 – Viditelná část elektromagnetického spektra [4]

1.2 Infračervené záření

Vlnová délka infračerveného záření je větší než u viditelného světla, leží pod (*infra* = pod) červeným světlem (800nm – 1000μm). Infračervené záření bylo objeveno Williamem Herschelem v roce 1800, když zkoumal sluneční spektrum. Bylo to přesně osmdesát let poté, co S. P. Langley vyvinul bolometr na jeho měření. Pomocí přesného teploměru zjistil, že rtuť vystoupila nejvýše v místech za červenou barvou tam, kde lidské oko nevidí už nic. Správně usoudil, že našel oblast nového neviditelného záření, které podle zjištěných účinků nazval zářením tepelným. [5]

Všechna tělesa vyzařují infračervené záření, včetně naše vlastního těla, v porovnání se Sluncem ovšem na větších vlnových délkách (cca 10 μm). Lidské oko není citlivé na tyto vlnové délky, protože samo lidské tělo, tedy i nitro oka, září a oko by bylo oslepeno svým

vlastním zářením. Infračervené záření má výrazné tepelné účinky, pro člověka je sice neviditelné, ale registrujeme je jako tepelný vjem. Vzniká rotací a vibrací atomů a molekul v každé látce, jejíž teplota je vyšší než absolutní nula ($-273,15^{\circ}\text{C}$)[5]

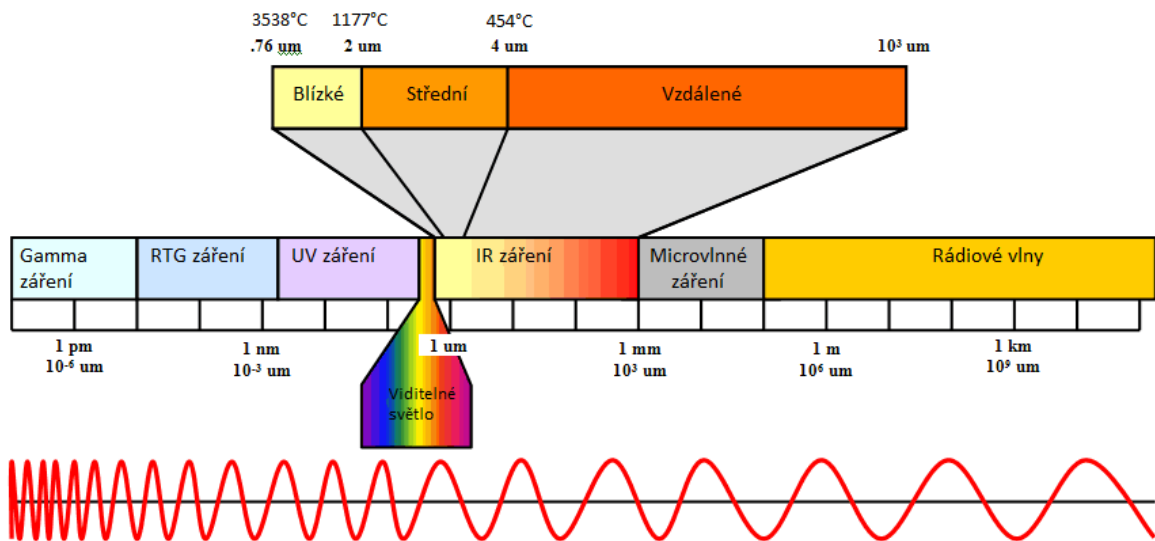


Obrázek 3 – Snímek pořízen IR kamerou [6]

Na základě vyzařovaného infračerveného záření jsme schopni pomocí infrakamery stanovit teplotu daného tělesa. Anebo s pomocí tohoto záření lze přenášet informace na krátkou vzdálenost, příkladem mohou být dálkové ovladače, čtečky čárových kódů, mobilní telefony, PC myši a klávesnice, zdrojem je červená LED.[8]

Infračervené záření můžeme podle vlnové délky rozdělit na 3 oblasti (Obrázek č. 4):

- ❖ blízké (IR-A) – obsaženo ve slunečním světle,
- ❖ střední (IR-B) – zdrojem jsou různé typy žárovek, zářivek a výbojek,
- ❖ vzdálené (IR-C) – zdrojem jsou různá topná tělesa.[8]



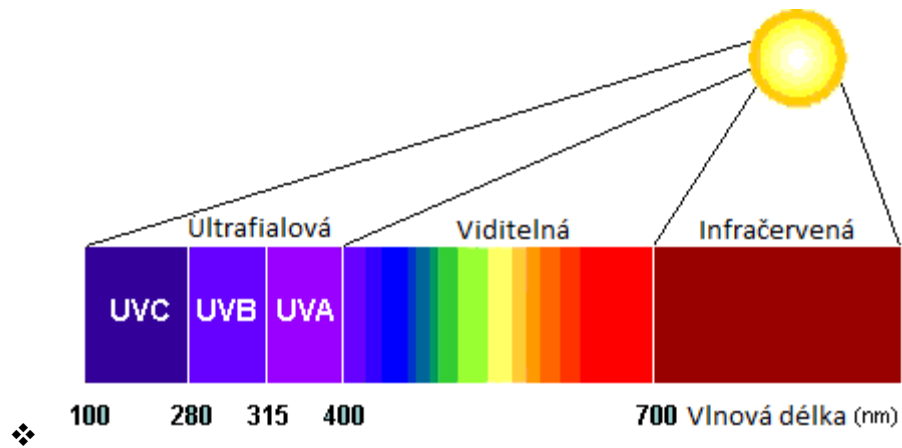
Obrázek 4 – Detailní zobrazení IR části elektromagnetického spektra [7]

1.3 Ultrafialové záření

Ultrafialové záření bylo objeveno německým vědcem Johannem Wilhelmem Ritterem v roce 1801.[9]

Jako ultrafialové záření se označuje elektromagnetické záření s vlnovou délkou kratší, než má viditelné světlo, ale delší než má rentgenové záření. UV záření je pro lidské oko neviditelné, ovšem pro mnoho zvířat je toto záření viditelné. Podle jeho vlnové délky můžeme UV záření rozdělit do tří kategorií:

- ❖ UVA, takzvané dlouhovlnné záření, nebo „černé světlo“, se vyskytuje v rozsahu 400nm – 320nm.
- ❖ UVB, neboli středněvlnné záření, nalezneme v rozsahu 320nm – 280nm.
- ❖ UVC, označováno jako krátkovlnné, někdy též dezinfekční záření, se pohybuje v rozsahu pod 280nm. [9]



Obrázek 5 – Jednotlivé části UV spektra – [10]

S pomocí ultrafialového záření je možné vyvolat luminiscenci nebo likvidovat živé organismy. Krátkovlnné UVC záření se proto využívá při úpravách vody jako desinfekce a sterilizace, v lékařských ordinacích, v potravinářských provozech, apod. Zvláštní pozornost vyžaduje ochrana očí a zamezení přímého pohledu do zdroje ultrafialového záření.[11]

Uměle vytvořené UV záření se běžně používá při každodenních činnostech. Pro jeho vyvolání se používají následující zdroje:

- ❖ Rtuťová výbojka, která je intenzivním zdrojem UV záření, například tzv. horské slunce
- ❖ Xenonová výbojka, která se běžně používá v předních světlech automobilů,
- ❖ Deuteriová výbojka, která není běžným zdrojem UV záření, je však použitelná jako zdroj při měření propustnosti materiálů pro UV záření, [11]



Obrázek 6 – Xenonová výbojka [12]

Při detekci ultrafialového záření máme oproti infračervenému poněkud zjednodušenou úlohu tím, že foton ultrafialového záření má větší energii než foton viditelného světla. Proto není třeba používat složitou zobrazovací techniku, ale pomocí luminiscence můžeme jednoduše převést neviditelné ultrafialové záření na viditelné. [13]

2 LUMINISCENCE

Luminiscence nastává v případě, že vlastní záření nějakého tělesa výrazně převažuje nad jeho tepelným zářením. Toto záření musí trvat podstatně déle, než je trvání periody tohoto záření. Podstatou luminiscence je návrat excitovaných elektronů na základní hladiny a s tím spojené vyzařování přebytečné energie ve formě fotonů. [14]



Obrázek 7 – Příklad luminiscence u hmyzu (světluška větší) [15]

Svítlící druhy luminiskujícího hmyzu, viz obrázek 10, některých druhů ryb, nebo dokonce ztrouchnivělých pařežů, byly popsány již dávno, proto má studium luminiscence za sebou již dlouhou historii, během které se vyvíjela jak samotná terminologie, tak i její zkoumání. Extraktem z výše zmíněných přírodních zdrojů byli Japonci a Číňané schopni vyrábět luminiscenční barviva již před více než tisíci lety. V 17. století byl pak popsán simík barmatý (BaS), tehdy označován jako „boloňský kámen“, který ve tmě emitoval červené světlo po předchozí excitaci slunečním zářením. Tento a jemu podobné kameny byly nazvány fosfory, které však nemají nic společného s prvkem fosforem, a z nich následně odvozený název pro zářící jev - fosforescence. Pro odlišení od fosforescence, byl zaveden termín fluorescence, a sice pro označení emise světla s „neměřitelně“ krátkým dohasínáním po ukončení excitace; tento efekt byl poprvé pozorován u fluoritu CaF_2 . Ke konci 19. století byl konečně zaveden termín luminiscence z latinského „lumen“ - světlo, ve kterém je zahrnuta jak fosforescence, tak fluorescence. [16]

Termín „fosfor“ (phosphor) lze i dnes někdy nalézt v anglicky psané odborné literatuře. Jeho význam však není přesně vymezen. V širším slova smyslu jej chápeme jako označení pro luminiskující pevnou látku. V češtině je ekvivalentem slovo luminofor. Také u pojmů fosforescence a fluorescence se jejich význam v současné době posunul, neboť fluorescence je často chápána jako světelná emise při dohasínání, pokud její trvání je pozorovatelné lidským okem. Mnohem přesněji jsou však tyto termíny vymezeny u luminiscence organických látek. [16]



Obrázek 8 - Příklad bioluminiscence u hub [18]

2.1 Luminiscenční spektroskopie

Luminiscence vzniká excitací atomu působením jiného záření, elektronů apod., a následným návratem atomu do základního stavu, čímž dojde k vyzáření fotonu. Luminiscenci látky lze tedy pozorovat po jejím ozáření jiným zdrojem záření. [16]

Pokud po odstranění zdroje ozařování látky luminiscence vymizí, hovoříme o fluorescenci. Pokud luminiscence přetrvává i po odstranění zdroje ozařování, jedná se o fosforescenci. Luminiscenci lze tedy podle délky trvání rozdělit na:

- ❖ **Fluorescenci**, která je tvořena přechodem mezi tzv. povolenými stavy atomu a tudíž jí nic nebrání ve vypouštění fotonů již za pár nanosekund. Podstatou fluorescence je spontánní a ničím nerušený návrat excitovaných elektronů na základní hladiny.

- ❖ **Fosforescence** proti tomu je přechod tzv. zakázaný. Může se však stát, že i při fosforescenci se fotony vyzáří, ale trvá to občas až několik minut. Příčinou dlouhého trvání fosforescence je to, že se elektrony po excitaci dostávají do takových energetických hladin, z nichž se nemohou snadno vrátit na základní hladinu, do tzv. metastabilního stavu. [17]

2.1.1 Typy luminiscence

Luminiscencí pevných látek rozumíme přebytek elektromagnetického (světelného) záření, které látka vysílá, nad zářením rovnovážným popsaným Planckovým vyzařovacím zákonem, který vyjadřuje závislost intenzity záření I absolutně černého tělesa na frekvenci ω :

$$dI = \frac{\hbar}{4\pi^2 c^2} \frac{\omega^3}{e^{\frac{\hbar\omega}{kT}} - 1} d\omega, \quad (1)$$

Kde: ω je úhlová frekvence záření,
 I je intenzita záření,
 T je teplota absolutně černého tělesa,,
 c je rychlost světla ve vakuu a
 k Boltzmannova konstanta.[19]

Pojem světlo zde chápeme v širším slova smyslu, ne pouze jako viditelné záření, ale i blízkou infračervenou a ultrafialovou oblast. Přitom ještě musí platit, že toto záření má dobu dohasínání podstatně delší, nežli je perioda světelných oscilací, tedy 10^{-14} - 10^{-15} s. Z této definice především vyplývá, že z termodynamického hlediska je luminiscence nerovnovážným zářením. To znamená, že látce je zapotřebí dodat jistým způsobem energii (nadbytečnou oproti té, kterou si těleso recipročně vyměňuje se svým okolím pomocí rovnovážného elektromagnetického záření. Jednotlivé typy luminiscence se především liší dle typu energie, která excituje atomy, a dle způsobu jejího dodání. Za základní typy luminiscence považujeme:[16]

- ❖ **Chemiluminiscence** – doprovází určitý typ exotermních reakcí (např. Luminol a peroxid vodíku), kde se část uvolněného tepla vyzáří ve formě světla. Uplatňuje se zejména při analýze plynů, složených z organických či anorganických molekul. [20]



Obrázek 9 – Příklad chemiluminiscence [21]

- **Elektrochemiluminiscence** – je speciálním typem chemiluminiscence. Zachovává výhody chemiluminiscence a umožňuje kontrolovat délku a druh záření. Projevuje se přeměnou elektrochemické energie na zářivou energii na povrchu elektrody. Při elektrochemické reakci se tvoří excitované molekuly, které při přechodu na základní (nebo nižší) stav vyzáří foton, tvořící část luminiscenčního záření. Elektrochemiluminiscence se používá jako velmi citlivá a selektivní metoda chemické analýzy. V níž se kombinuje výhody chemiluminiscence a kontroly reakce pomocí změn potenciálu na elektrodách [17].
- ❖ **Bioluminiscence** – je přírodní varianta chemiluminiscence u živých organismů. Energie je tvořená chemickou reakcí a je vypuštěna ve formě světelné emise. Tento jev je pozorovatelný v přírodě poměrně často, u hmyzu (zejména u světlušek), mořských a hlubokomořských živočichů (sépie, medúzy). [16]
- ❖ **Krystaloluminiscence** – luminiscenční efekt, který vzniká při krystalizaci některých anorganických sloučenin. Zřetelný je tento jev při krystalizaci $\text{Ba}(\text{BrO}_3)_2$ [16]. Emisní spektra materiálu v průběhu krystaloluminiscence se často shodují s těmi luminiscenčními. [16]
- ❖ **Elektroluminiscence** – vzniká v materiálu při průchodu elektrického proudu nebo přítomností silného elektrického pole. Je to důsledek zářivé rekombinace elektronů a děr v materiálu (většinou v polovodiči). Excitované elektrony uvolňují energii ve

formě luminiscenčního záření. Elektrony se dají vybudit i dopadem elektronů s vysokou kinetickou energií nebo dotováním p-n přechodu. Elektroluminiscence se využívá primárně v moderních LED obrazovkách, podsvícení LCD displejů nebo v tzv. nočních lampách [16].

- **Katodoluminiscence** – vzniká při dopadu vysokoenergetického elektronového svazku na stínítko. Pomocí této techniky se dají například zkoumat polovodiče typu GaN či GaAs. Katodoluminiscenční mikroskop se využívá v geologii nebo materiálových vědách. V materiálovém inženýrství se tento jev využívá u rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM), díky němuž se dají rozlišit i struktury s velikostí okolo jednotek nanometrů. [16].



Obrázek 10 - příklad elektroluminiscence [22]

- ❖ **Mechanoluminiscence** – emise záření způsobená mechanickým dějem na povrchu vzorku. Mechanoluminiscenci je dále možné dělit na jevy:
 - **Triboluminiscenci** – vzniká při trhání, drcení nebo poškrábání materiálu. Zejména však při tření dvou povrchů. Triboluminiscence není zcela pochopena, ale současná teorie se opírá o to, že při rozlomení asymetrických materiálů (nebo třením) se přerozdělí náboj, který ionizuje okolní vzduch. Zřetelný je tento jev například při drcení cukru, kdy z něj vychází slabé modré

záblesky. Méně častým jevem je také záření oblohy v blízkosti pohybu tektonických desek.

- **Fraktoluminiscenci** – bývá považována za synonymum triboluminiscence. Vzniká však spíše lomem krystalické struktury. Při rozlomení se přerozdělí náboj a mezi úlomky krystalu vznikne elektrický potenciál. Velikost potřebného potenciálu k fraktoluminiscenci je závislá na dielektrických vlastnostech plynu v prostoru mezi úlomky.
 - **Piezoluminiscenci** – forma luminiscence vytvářející se při mechanickém tlaku v určitých pevných látkách. Tento jev je charakterizován rekombinačními procesy zahrnující elektrony, díry a nečistá iontová centra.
 - **Sonoluminiscenci** – emise světla, která vzniká při implozi bublinek v kapalině excitované zvukovými, tedy mechanickými, vlnami [16].
- ❖ **Fotoluminiscence** – je kvantově-mechanický děj, při kterém je látka po dopadu fotonu vybudena do vyššího energetického stavu. Návrat na základní stav je doprovázen vyzářením fotonu. Příkladem nejjednodušší formy fotoluminiscence je jev, nazývaný rezonanční záření. Při něm je absorbován foton s určitou vlnovou délkou a ihned je vyzářen foton, jemu ekvivalentní. Při tomto jevu nedochází k žádným vnitřním změnám energie a je extrémně rychlý, v řádu desítek nanosekund. Jinou formou je fosforescence, kdy energie absorbovaného fotonu je „uvězněna“ a dochází k pomalému vyhasínání. Nastat ovšem může i jev zvaný fluorescence. Tento děj je také poměrně rychlý avšak vyznačuje se tím, že vyzářený foton není ekvivalentní přijatému. A to proto, že energie dopadajícího fotonu je z části rozptýlena a vyzářený foton, vykazuje takzvaný „rudý posuv“. Fotoluminiscence je důležitý jev pro měření čistoty a kvality krystalických polovodičů typu GaAs, InP, atd. Velmi běžným příkladem využití fotoluminiscenčních materiálů je výroba výstražných značení (nouzový východ).
- **Fluorescence** – jev, při kterém má emitovaný foton obvykle delší vlnovou délku, tedy nižší energii. Nemusí to však platit vždy, je možné, aby elektron absorboval dva fotony a vyzářil foton s kratší vlnovou délkou než je dopadající záření. Fluorescence se využívá v mineralogii, chemických a biologických senzorech nebo barvivech. Nejčastěji se však využívá u fluorescenčních lamp (zářivek). Uvnitř každé lampy je rtuťová výbojka, vydávající ul-

trafialové světlo, které je přeměňováno na viditelné pomocí fosforové vrstvy.

- **Fosforescence** – hlavní rozdíl mezi fluorescencí a fosforescencí je v době dohasínání. U fosforescence dochází k pomalému návratu z excitovaných stavů. Kvantově mechanické vysvětlení je takové že, elektrony s energií absorbovaného fotonu prochází vnitřními přechody do takových energetických hladin, z nichž se nemohou přímo vrátit do základního stavu. Výsledkem je polapení energie zakázanými přechody. Tato energie se pak uvolňuje v řádech minut nebo hodin.
- **Zpožděná fluorescence** je zářivý přechod ze stejné energetické hladiny jako při fluorescenci, ale s delší dobou dohasínání. Doba dohasínání zpožděné fluorescence je přibližně rovna době dohasínání fosforescence měřené za stejných podmínek. Emisní spektrum zpožděné fluorescence je totožné s emisním spektrem okamžité fluorescence.[16]
- ❖ **Radioluminiscence** – Vzniká při dopadu ionizačního záření, například beta záření. [16]
- ❖ **Termoluminiscence** – Tento jev je snadno zaměnitelný se zářením černého tělesa, nicméně je mezi nimi rozdíl. Vysokoenergetické záření vytváří v krystalických materiálech vybuzené energetické stavy. Tyto stavy mohou být díky poruchám a vadám mřížek ‚uzamknuty‘. Nejsou však energeticky stabilní, takže při ohřevu materiálu, se díky vibracím mohou rozkládat do nižších stavů. Použití nalezne v termoluminiscenčním dozimetru nebo v datování keramiky. V posledních několika letech se začíná zkoumat i světlo vznikající při injekci nízkoenergetických elektronů, popř. děr, (energie řádu 1 eV) do polovodiče nebo kovu v rastrovacím tunelovacím mikroskopu. U kovů však název luminiscence není patrně zcela na místě, protože luminiscence jako taková bývá z historických důvodů spojována s nekovovými pevnými látkami – izolátory a polovodiči. Používá se zde proto spíše názvu fotonová emise. [16]



Obrázek 11 – termoluminiscence keramiky [23]

Druhá část definice luminiscence, hovořící o konečné době dohasínání, odlišuje luminiscenci od jiných typů tzv. sekundárního záření: odraženého světla, různých typů rozptýleného světla (Rayleighův, Ramanův a Brillouinův rozptyl) a Čerenkovova záření.

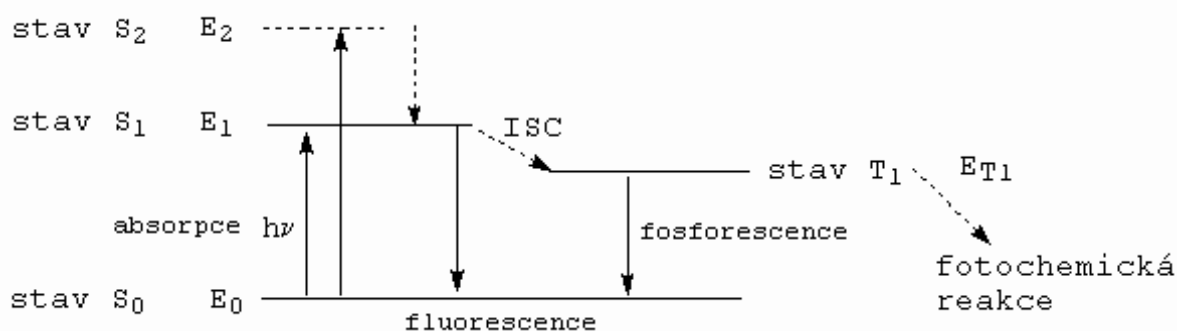
2.1.2 Rayleighův rozptyl

Nejčastěji laserový paprsek excituje elektron v základním stavu do virtuálního stavu, a při návratu z virtuálního stavu zpět se vyzáří foton se stejnou vlnovou délkou, jakou měl původní foton - tzv. Rayleighův rozptyl, který nenesou žádnou analytickou informaci. Ve spektrální analýze nemá takto vyzářený foton žádné využití. Všechny tyto druhy záření totiž vznikají jako akty velmi rychlé interakce fotonu s hmotou a u rozptylů de facto nedochází k výměně energie mezi dopadajícím fotonem a elektronovým systémem pevné látky. Naopak při luminiscenci jsou excitovány elektrony do vyšších energetických stavů, dochází tedy k reálné absorpci elektronové excitační energie v látce a její postupné transformaci, což vede k tomu, že posloupnost všech dějů trvá relativně dlouho. Proto po přerušení dodávky excitační energie dohasíná luminiscence ještě po jistou dobu. Dolní hranice této doby se zkracuje úměrně s tím, jak se vyvíjejí metody časově rozlišené spektroskopie. Dnes ji můžeme považovat za stovky femtosekund. (Ovšem časová škála dob dohasínání je mnohem širší a prostírá se před nanosekundy až po desítky hodin. [24])

2.1.3 Luminiscence organických a anorganických látek

Luminiscenci vykazuje většina organických látek (aromatické uhlovodíky benzen, naftalen, antracén; organická barviva atd.) stejně tak jako množství vybraných látek anorganických (iontové krystaly, polovodiče). Její původ je však v obou případech zásadně odlišný. V organických látkách je nositelem charakteristického luminiscenčního záření molekula. To znamená, že luminiscenční záření má v zásadě velmi podobné rysy (spektrální složení, dobu dohasínání) jak v roztoku, tak i v krystalickém stavu. Je totiž známo, že krystaly organických látek jsou tvořeny molekulami, mezi nimiž zprostředkují vazbu jen slabé van der Waalsovy síly. Tedy molekuly si zachovávají do značné míry svou individualitu; slabé intermolekulární síly ji modifikují jen nepatrně. Totéž platí tím spíše pro roztok, a proto se luminiscenční spektrum organických látek v pevné fázi a v roztoku příliš neliší. [16]

Základní rysy luminiscence organických látek lze tedy odvodit z energetické struktury složitých organických molekul (tzv. Jablonského diagram), viz. Obrázek 12. Jak známo, základním stavem takové molekuly je singlet S_0 , vyššími elektronovými stavy jsou především vzbuzené singletní stavy (S_1 , S_2 , S_3 ,...). Vyšší vzbuzené singlety S_2 , S_3 ... velmi rychle nezářivě relaxují do stavu S_1 , přechod $S_1 \rightarrow S_0$ vede k vyzáření luminiscenčního fotonu. Tento zářivý přechod je spinově dovolený a tedy rychlý (charakteristický čas je řádu 10^{-9} s) a nazývá se fluorescence. Existují však také vzbuzené tripletní stavy T_1 , T_2 , T_3 ... Přechod $T_1 \rightarrow S_0$ je doprovázen též vyzářením fotonu, je však spinově zakázán a tedy je pomalý (10^{-3} s). Nazývá se zde fosforescence. [16]



Obrázek 12 – Jablonského diagram [28]

U anorganických látek v pevném stavu, především u polovodičů, o molekule v podstatě nemá smysl hovořit (molekula křemíku?). Fyzikální vlastnosti, především vytvoření zakázaného pásu energií apod., jsou zde podmíněny existencí minimálního souboru alespoň

několika desítek atomů (často zvaného „klastř“). Skutečných vlastností objemového materiálu čili teoreticky nekonečně velkého krystalu (bulk), a tedy i charakteristického luminiscenčního projevu, však dosahují až útvary o laterálním rozměru asi 1 μm , které obsahují řádově 10¹⁰ atomů. [16]

2.1.4 Využití luminiscence

Kromě zábavního průmyslu, kde se využívá chemických nebo mechanických reakcí k vyvolání luminiscence v různých předmětech, se dále s tímto jevem můžeme setkat v mnohých průmyslových odvětvích, zvláště v technice se jev uplatňuje velmi široce, např. u osvětlovací techniky (žárovky, výbojky), u zabezpečovací techniky, v optoelektronice (stínítka obrazovek, luminiscenční diody), v elektronice při výrobě obrazu v CRT a LED televizích a monitorech počítačů, v hodinářství, apod.

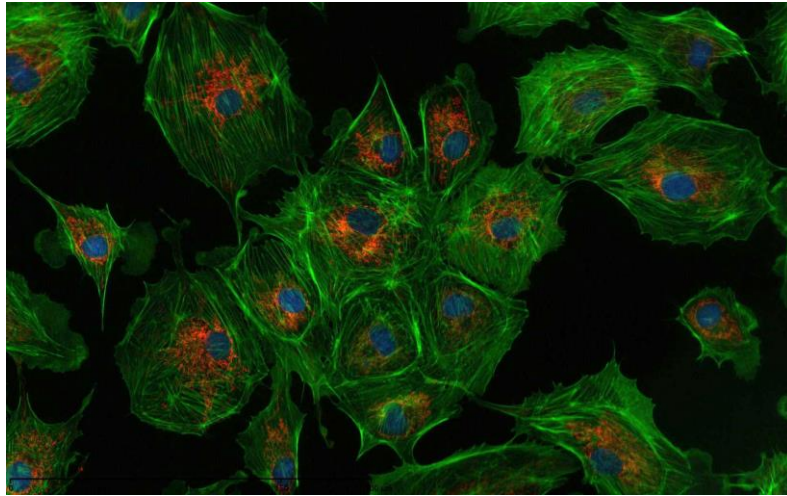


Obrázek 13 – Luminiscence české bankovky [25]

Ve zdravotnictví se využívá fluorescence v mikroskopii např. v molekulární genetice nebo buněčné biologii, kdy je třeba zviditelnit určité látky a struktury v buňce. Luminiscence v UV světle je důležitým identifikačním znakem v mineralogii při studiu tepelných a elektrických vlastností minerálů, v chemii při kvantitativním a kvalitativním určení látek, atd. Bankovky, šeky a další ceniny bývají označeny drobným detailem s luminiscenční vlastností, čímž se snadno identifikuje jejich pravost.[26]

Rozšířilo se i používání luminiscenčních značek žlutozelené barvy, které zahrnují značky pro únik a evakuaci osob, značky překážek na únikových cestách a další informativní značky. Stejně tak jsou i luminiscenční pásy důležitým bezpečnostním prvkem pro označení klik dveří únikových východů, označení hrany předmětů, schodů nebo zábradlí schodišť na únikových cestách. Všechny zmíněné prvky zvyšují bezpečnost úniku lidí při mi-

mořádných situacích. Luminiscenci využívají i lasery, se kterými se můžeme setkat v mnoha odvětvích průmyslu a výzkumu, v medicíně, při zkoumání a výrobě léčiv, atd.[26]



Obrázek 14 - Fluorescentní mikroskopie – plicní buňky [27]

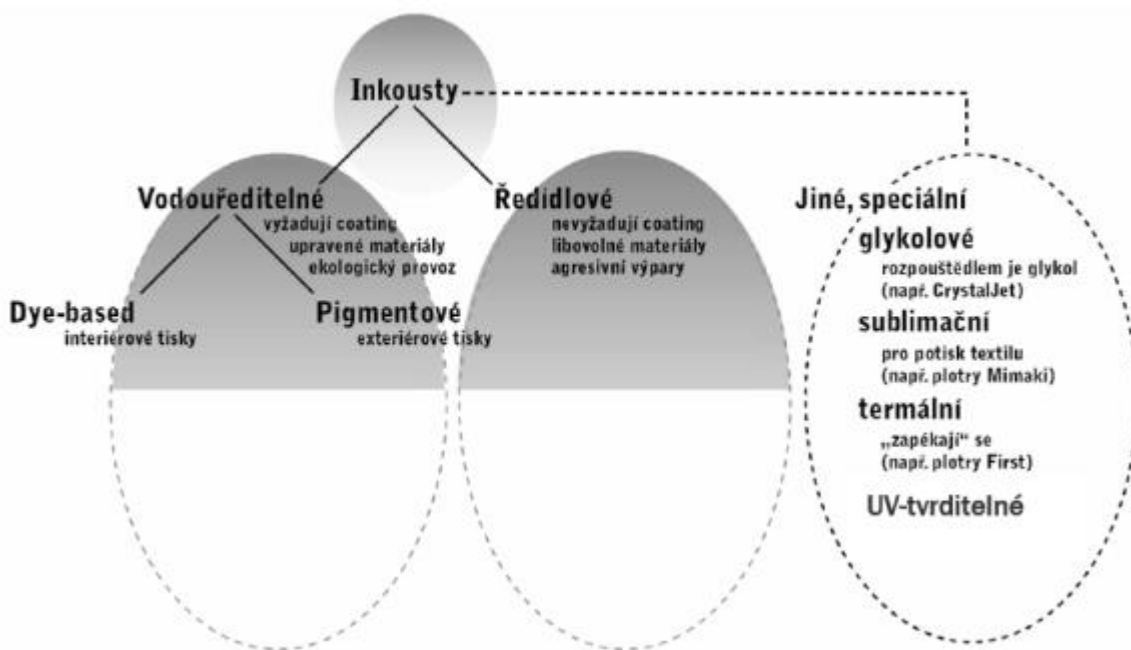
3 INKOUSTY

Aplikace barevné kapaliny nebo pasty na papír, jako prostředek pro tištěný nebo písemný přenos informace, je základem převážné většiny dokumentů. Inkousty se dají charakterizovat jako barevné látky, díky nimž můžeme zaznamenat informace na popisový materiál. Hlavními požadavky na inkousty jsou jejich trvanlivost a barevnost.

Inkousty používané v tisku se značně liší od těch, které jsou používány pro psaní. Tato kapitola se zabývá výrobou a zkoumáním inkoustů používaných u ručně písících instrumentů.[28]

3.1 Základní rozdělení

Chemické složení konkrétních inkoustů různých výrobců jsou vždy výrobním tajemstvím dané společnosti, které si pečlivě chrání. Z tohoto důvodu je v následujících kapitolách popsáno jen obecné složení inkoustů, jejich základní rozdělení a hlavní složky. [28]



Obrázek 15 – Schématické rozdělení inkoustů. [28]

3.2 Složení inkoustu

Mezi hlavní složky inkoustu patří tři následující látky:

- ❖ Barvosná látka
- ❖ Konzervační látka
- ❖ Pojivo[20]

3.2.1 Barvosná složka

Barevná složka, která obvykle zastává kolem 20ti% celkového objemu inkoustu, může být vytvořena pomocí barviva, pigmentu, nebo jejich kombinací, tzv. pigmentované inkousty. Všechny tři varianty jsou podrobně popsány v následujících podkapitolách. [20]

❖ Inkousty na bázi barviv

Barviva jsou obecně popsány jako silně barevné organické sloučeniny, které mohou trvale a dostatečně intenzivně obarvit různé materiály, jako papír, textilie, kůži apod. Tyto látky selektivně pohlcují určitou oblast dopadajícího světla, konkrétně jejich vlnovou délku, takže odražené nebo prošlé světlo se jeví jako barevné. Oproti pigmentům nemají sice takovou barevnou stálost, ale lze jimi vytvořit širokou škálu odstínů. Azobarviva patří mezi nejrozšířenější skupinu organických barviv.[20]

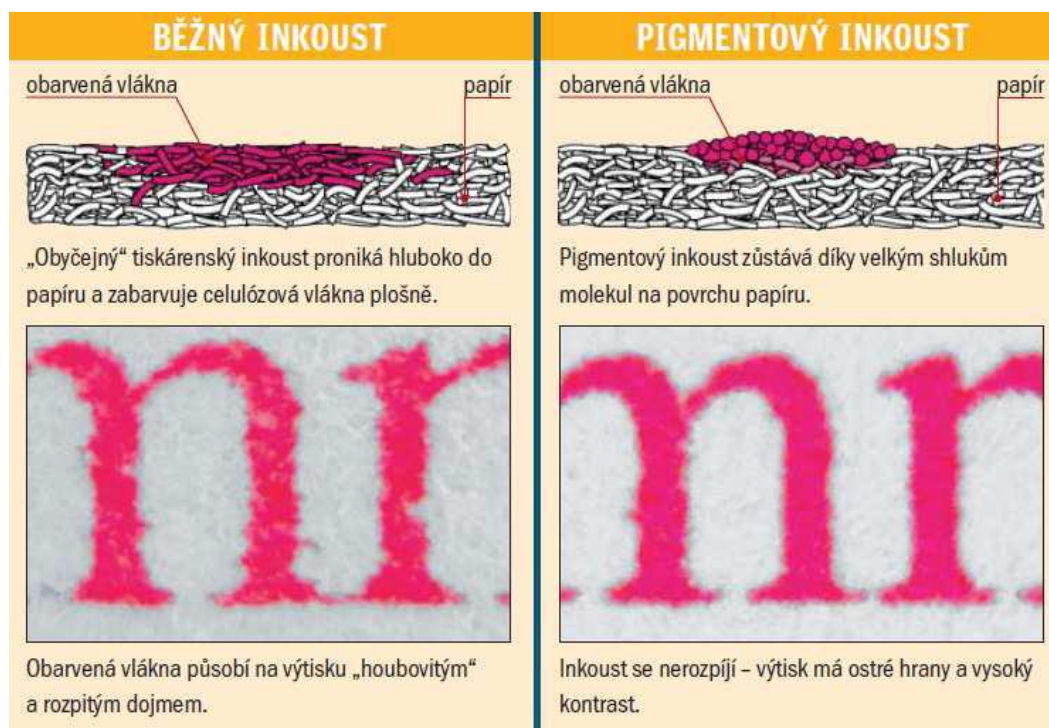
❖ Inkousty na bázi pigmentů

používají jako barvosnou složku výhradně nerozpustné pigmenty. Mikroskopické částičky nerozpustného pigmentu jsou rozptýleny v rozpouštědle a stabilizovány proti sedimentaci a koagulaci. Výsledný inkoust je tedy mikroheterogenní směsí. Pigmenty použité v těchto inkoustech mají obecně nižší barevnou sytost, a proto inkoustové sady na nich založené mívají menší barevný gamut (dosažitelná oblast barev v určitém barevném prostoru). Díky mikroskopickým rozměrům pigmentových částic jsou pigmentové inkousty schopné pronikat hlouběji pouze do porézních a mikroporézních tiskových médií.

[26]

Při aplikaci na povrch podkladů se většinou volí porézní materiály, protože nejsou schopny se tak dobře vpíjet do podkladu kvůli velikosti pigmentů. Při aplikaci na nesprávně upravený povrch mohou vytvářet rušivé artefakty. Použití těchto inkoustů se velice hodí na archivaci a to hlavně kvůli trvanlivosti barev. Používají se jak přírodní anorganické pig-

menty tak i chemicky vyrobené. Organické pigmenty se vyrábí jak z těl rostlin, tak i živočichů. Za zmínku stojí mořenová červeň (z kořene mořeny barvířské), purpur (z plže *Hexaplex trunculus*) nebo karmín (z červce „mšice“ rodu *Dactylopius*). Chemicky vytvářené pigmenty jsou většinou deriváty složitějších chemických organických sloučenin, jakož to chinonu, antrachinonu, xanthenu, ftalokyaninu a tiazolu. Do přírodních anorganických pigmentů spadá křída, sádrovec nebo grafit. Do anorganických pigmentů patří litopon (bílý pigment), zinková běloba apod. [26]



Obrázek 16 - Absorbce a odraz záření [17]

❖ Pigmentové inkousty

Představují výsledek snahy eliminovat nevýhody obou výše popsaných typů inkoustů pomocí jejich kombinace. V praxi však spíše než potlačení nevýhod jednotlivých přispívajících složek pozorujeme vznik nových problémů, např. tzv. chromatografickou separaci. Pokud inkoust obsahující pigment i barvivo zároveň interaguje s porézním substrátem, může se snadno stát, že podstatně menší, a proto pohyblivější molekuly barviva proniknou hlouběji než objemnější částice pigmentu. Následkem této separace může dojít k výrazné změně barevného odstínu, ale tato změna je na různých médiích různá, proto má výtisk na různých papírech různé barvy

Jedná se kombinaci předešlých dvou typů inkoustů. Bohužel se ukázaly problémy, související s rozdílnou vsakovatelností a tím je ovlivněn odstín barvy, který se může lišit od předpokladu.[26]

3.2.2 Pojivo

Třetí základní složkou inkoustu je pojivo, které zajišťuje dobrou přilnavost k papíru a soudržnost barvonosné složky. Složení pojiv představují následující látky:[26]

1. Filmotvorné látky:

Ty zajišťuje přilnutí inkoustu s povrchem a po zaschnutí vytvořit nelepivý film. Většinou jsou na bázi rostlinných olejů nebo pryskyřic.

2. Aditiva:

Upravují vlastnosti inkoustu podle potřeb výrobce. Zlepšují například povrchové a smáčečící vlastnosti, nebo zabraňují zanášení aplikačních částí.

3. Rozpouštědlo:

V neposlední řadě je složkou každého pojiva rozpouštědlo. Jeho účelem je udržet složky inkoustu v kapalném stavu. Podle použitého rozpouštědla lze inkousty dělit na vodou ředitelné inkousty a ředidlové inkousty.

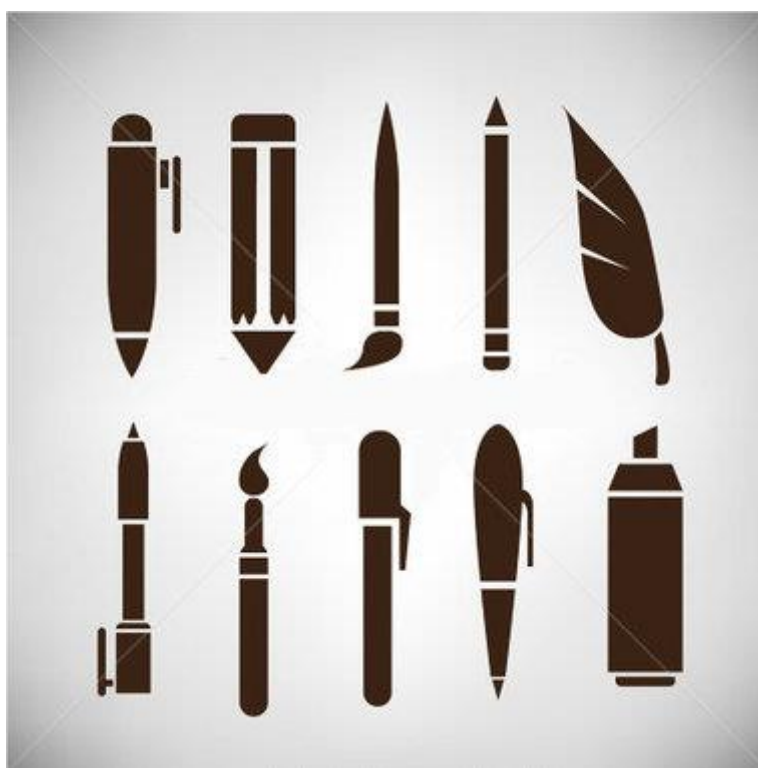
- ❖ Vodou ředitelné inkousty jsou ekologičtější, v dnešní době více propagované, ale mají jisté nedostatky. Pomaleji schnou a u savých materiálů se mohou díky tomu více rozpíjet. Při usychání avšak nevylučují žádné toxické látky.
- ❖ Ředidlové inkousty rychle schnou díky těkavé povaze rozpouštědla, ale výpary jsou toxické a tím méně ekologické, při použití se setkáváme s jistým omezením. Využívají se k tomuto účelu například alifatické uhlovodíky, aromatické uhlovodíky (toluen, xylen, trimethyl benzeny), alkoholy, estery, ketony a jiné.[26]

3.3 Inkousty pro psací nástroje

Existuje celé množství psacích nástrojů, pomocí kterých se inkoust nanáší na podklad. V této podkapitole se však budeme zabývat pouze inkousty do kuličkových per, plnicích per a fixů.

3.3.1 Tekuté/kapalné inkousty

Inkousty se poprvé objevují již před několika tisíci lety v Číně a po celá staletí byly založeny na roztroušených uhlíkových částicích ve zředěném vodném oztoku lepidla, existují však i alternativy v podobě například duběnkových inkoustů, které jsou fialovo-černé barvy a vyráběné ze solí železa a taninu z rostlinných zdrojů. Jde o organokovovou sloučeninu rozptýlenou ve vodě, ve které je stabilizována pojivem, který zajišťuje rozptýlení pigmentu v roztoku. V Evropě byl běžně používán od 12. do 19. století.. Dnešní takzvané indické inkousty, vyrobené v podstatě stejným způsobem, zanechávají silně tmavě černou a trvalou psací linku.[8]



Obrázek 17 – Typy psacích nástrojů [28]

Následně byly objeveny železo-taninové inkousty, které tvořila směs železité soli a taninu spojená určitým lepidlem, které se v modifikované formě hojně používaly až do nedávné doby. Nejdůležitější změna, provedena v devatenáctém století, byla přidání barviva indigo. Toto obohacení poskytlo linii psaní modrou barvu, která po nějaké době zčerná vinou oxidace železo-taninových složek. Směs proto vešla ve známost jako modro-černá.

Barviva byla zprvu použita pro nahrazení části železo-taninových složek a nakonec tyto složky vyřadila úplně. Příchod plnicího pera, které, na rozdíl od dřívějších brk a per s že-

lezným hrotem, mělo vlastní zásobu inkoustu, rychle urychlilo jeho vývoj. Používání barviv zvýšilo použitelnou škálu barev a umožnilo vznik omyvatelných barev, s použitím naprosto ve vodě rozpustných barviv, které mohly být snadno a trvale odstraněny. Ostatní změny, jako přidání alkoholu do směsi inkoustu, byly použity pro rychlejší schnutí inkoustů.[28]

3.3.2 Inkousty do kuličkových per

Vynález valivého kuličkového pera představil nový koncept aplikování inkoustu na papír. Kulička na konci trubice sbírá inkoust z nádrže nad ní a předává ho na povrch papíru. Vzhledem k tomu, že se kulička otáčí tak dlouho, dokud je pero v pohybu na papíru, tok inkoustu je kontinuální a soustavně aplikuje požadované množství k psaní. [28]



Obrázek 18 – Detail hrotu kuličkového pera – [25]

Inkousty do kuličkových per nejsou založeny na vodném roztoku, ale na rychle vysychající pastě. Směsi barviv poskytují barevnost a neméně důležitou složkou je pryskyřičný materiál, který zůstane na papíře i po odpaření rozpouštědla a slouží k vázání inkoustu na papír. Pohodlí při psaní kuličkovým perem mu dalo čestné místo mezi všemi ostatními formami psacích instrumentů. Většina ručně psaných dokumentů je dnes napsaná pomocí kuličkového pera a zdá se, že to bude i nadále nejpopulárnější forma pera pro nadcházející léta. [28]



Obrázek 19 – Princip rozdílu mezi plnicím a kuličkovým perem [28]

3.3.3 Fixy

Po vývoji kuličkového pera přišly na trh označovače neboli tzv. fixy. Ty spoléhají na hrot ze stlačených vláken, obvykle z plsti (filce), což je plošná textilie ze vzájemně zaklesnutých vláken, která přenáší inkoust ze zásobníku na papír pomocí kapilárního působení v mezerách mezi vlákny. U zplstělých hrotů jsou vlákna méně hustě stlačená a špička psaní je proto širší. Hrot fixu může tvořit svazek více stlačených vláken, který je dostatečně úzký, aby produkoval linku podobnou jako u plnicího či kuličkového pera. Inkousty použité v těchto psacích nástrojích jsou na bázi vody, s obsahem alkoholu a jiných rozpouštědel k vyvolání rychlého uschnutí a barevného efektu, podobného těm z jiných vodových inkoustů. [28]

4 APLIKACE VE FORENZICE

Někdy je nutné prokázat, zda bylo konkrétní pero použito k napsání konkrétního dokumentu. Častěji je však třeba prokázat, zda jsou dva vzorky inkoustu z jednoho dokumentu shodné. Přidáním pár písmen či cifer u množství peněz se může daný dokument výrazně změnit. Přírůstky se mohou pohybovat od celých dlouhých pasáží po jedinou číslici tak jednoduchou jako například číslo "0", které může zvýšit zdánlivou hodnotu dokumentu i mnohokrát.



Obrázek 20 – příklad luminiscence padělaného bankovního šeku [28]

Při výrobě a vývoji pera a inkoustů jsou pravidelně prováděny testy s cílem zlepšení kvality, snížení nákladů a dalších faktorů důležitých pro výrobce. K dispozici je dostatečné množství vzorků a komplikace při přesném zkoumání, jako je například nežádoucí přítomnost papíru, mohou být lehce vyřešeny nebo alespoň kontrolovány.[28]

4.1 Nedestruktivní metody

Na druhou stranu forenzní vyšetření dokumentu je prováděno s malým množstvím inkoustu již uschlého na papíře. Jsou zde i další problémy, a sice že dokument se může během zkoumání poškodit. Proto se jako první použijí ty techniky, které jsou navrženy tak, aby

získaly co nejvíce informací z inkoustu na dokumentu vizuálním nebo jiným nedestruktivním způsobem. V případě neúspěchu nedestruktivních testů se volí ty metody, které vyžadují vzorek odebraný z dokumentu.[16]

4.1.1 Zkoumání pohledem

Oko je samo o sobě silným vědeckým nástrojem, který je schopen vyčíst mnoho informací o zkoumaném vzorku inkoustu na dokumentu. S pomocí mikroskopu a použitím nízkého výkonu, což je zvětšení až stonásobné, je z papíru možné získat množství neocenitelných informací. Vzhled inkoustu kuličkových per, zvětšený asi 20-50 krát, poskytuje jasný důkaz o jeho původu. Protože jsou inkousty kuličkových per pouze částečně absorbovány do papíru, mají charakteristický lesklý vzhled, a jejich pastovitý charakter je nezaměnitelný. V mnoha případech je také přítomno pruhování zaschlého inkoustu způsobeného nedokonalými nebo špinavými pouzdry samotných kuličkových aparátů. Tlak, který často potřebný při psaní s kuličkovým perem, bude mnohdy rovněž způsobovat zářezy v papíru.[obří pdf]

Naproti tomu inkousty na bázi vody neboli "mokré" inkousty vybarví papír tím, že jsou do něj absorbovány a zbarví tak papír ve velmi úzké linii. Inkoust sám nebude rozpoznatelný jako vrstva přidaného materiálu, ale spíše jako barevná plocha s rovnoměrnou texturou povrchu daného papíru. Zda je text napsán pomocí moderních plnicích per, per s vláknitým hrotem nebo kuličkových per není obvykle od pohledu zřejmé, a to i pod zvětšením. Hloubka zářezu bude malá nebo žádná, ale vadný nástroj může zanechat určité údaje, pouzdro valivého kuličkového pera, je-li drženo v ostrém úhlu vzhledem k papíru může zanechat obroušení paralelně souměrné s linií textu. Nicméně, použití širokého hrotu pera bude zřetelně znatelné díky proměnné šířce řádku.

Jiné neinkoustové psací nástroje zanechávají charakteristické stopy. Tužky a pastelky zanechávají pevné usazeniny na papíře, a ty mohou být viděny jako takové pod mikroskopem. Lesklý vzhled grafitu a voskový vzhled pastelu na povrchu papíru jsou natolik charakteristické, že je velice nepravděpodobné, že by došlo k záměně s jinými materiály.

Kromě rozlišení mezi různými typy inkoustů, je možné zjistit změny i mezi inkousty stejného typu. Struktura se může značně lišit, a to zejména v rámci inkoustů kuličkových per, přičemž šířka čáry bude rovněž záviset na velikosti kuličky nebo typu aparátu.

Přítomnost pruhování u inkoustu z kuličkového pera může také pomoci rozlišit mezi různými konkrétními pery. Vymazatelné inkousty mají charakteristický vzhled při zvětšení asi

stonásobném. Vzhledem k tomu, že jsou založeny na přenosu pomocí gumové báze, kterým vznikají jemné vlny na inkoustu, mohou být odlišeny od běžných propisovacích inkoustů.

Stejně jako rozdíly ve vzhledu, barva je také velmi významným faktorem při porovnávání inkoustů. Odstíny a hloubka barvy se značně liší, a pod mikroskopem mohou být rozdíly mezi inkousty detekovány i vizuálně. Pozor je třeba dát na to, že linie napsaná v konkrétním čase jedním konkrétním nástrojem může časem měnit svou intenzitu.[28]

4.1.2 Zkoumání barev

Jak bylo zmíněno, světlo je v podstatě elektromagnetickým zářením určitých vlnových délek nebo frekvencí, které mohou být okem detekovány. Nejen, že lidské oko může detekovat toto záření, může také rozlišovat mezi přítomnými vlnovými délkami. Lidské oko je citlivé na záření o vlnové délce pohybující se v rozmezí asi od 400nm do 700nm a sice ve spektru barev od fialové po červenou, jako u duhy, viz Obrázek 30.

Barva	Interval vlnových délek
Červená	700–635 nm
Oranžová	635–590 nm
Žlutá	590–560 nm
Zelená	560–490 nm
Modrá	490–450 nm

Obrázek 21 – Zobrazení vlnových délek jednotlivých barev [30]

Nicméně většina barev, detekovatelných lidským okem, se neskládá ze směsi různých světél, ale ze světla odraženého od barevné hmoty. Některé sloučeniny absorbují světlo v určitých vlnových délkách. Dělají to proto, že mají ve své struktuře kombinaci atomů, tzv. chromofory, které mají tu vlastnost, že neabsorbují jednotlivé vlnové délky, ale určitý rozsah nebo rozmezí vlnových délek. Pokud bílé světlo dopadá na sloučeninu o určité barvě, část světla je absorbována na příslušných vlnových délkách a zbytek se odrazí. Jedná se o odražené světlo z té části spektra, která není absorbována, jež je detekována okem. Díky tomu, že odražené světlo obsahuje jen některé vlnové délky, a ne celé spektrum, se nejeví bíle, ale barevně. Tedy pokud jsou absorbovány modré, zelené a žluté složky bílého světla,

odražena bude zbývající červená, což objektu vdechne červenou barvu. Jsou-li absorbovány všechny vlnové délky dopadajícího bílého světla, objekt se bude jevit jako černý. [28]

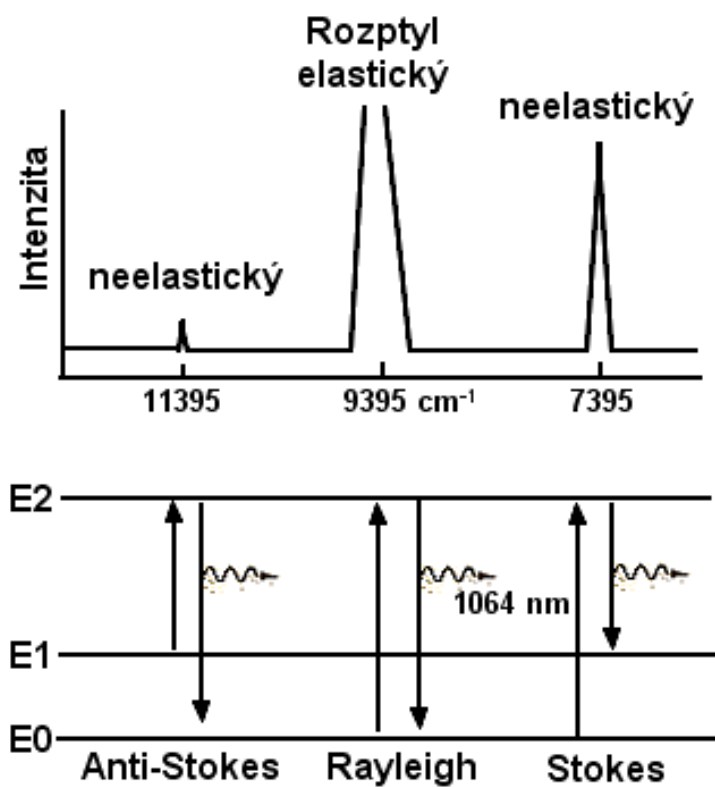
4.1.3 Mikrospektrofotometrie

Mikrospektrofotometrie (zkratka MSF) je metoda analytické chemie, která vznikla kombinací mikroskopie a spektrometrie. Její vznik byl nutný, protože srovnávací mikroskopy mají tu vadu, že nedokáží rozlišit složení dvou červených barev, které vypadají stejně, ale ve skutečnosti se mohou lišit ve složení. Řešením problémů se tedy stala MSF, která v sobě spojuje mikroskopické i spektroskopické metody, přičemž toto spojení donedávna naráželo především na technická omezení - na konstrukci čoček a na slabé zdroje záření. Konstrukce čoček se napravila používáním elektromagnetických cívek, pří-padně naleštěných ocelových zrcadel místo skleněných a o dostatečně silné zdroje záření se postaraly lasery.[28]

Hlavní výhodou MSF je možnost zkoumat vzorky do většího detailu. Ve forenzní chemii lze takto pozorovat jen jedno vlákno, které lze rovnou prověřit i spektrálně. Mikroelementární analýza je z části zvláštním případem SEM, který skládá obraz objektu pomocí proudu elektronů, které se na vzorku rozptylují. [28]

4.1.4 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie je další metoda pracující s vibracemi molekul, tedy v infračerveném pásmu. Tato technika používá rozptyl laserového paprsku při interakci s látkou. Nejčastěji laserový paprsek excituje elektron v základním stavu, který při návratu do základního stavu vyzáří foton se stejnou vlnovou délkou, ale v zásadě libovolným směrem. To je tzv. Rayleighův rozptyl, který nenesou žádnou analytickou informaci. Tu ale nesou fotony s jinou vlnovou délkou, které vznikají buď z excitovaných elektronů, které pak spadnou do základního stavu – Anti-Stokesovy fotony s větší energií než byla energie fotonů laserového paprsku, nebo z elektronů, které byly původně v základním stavu, ale deexcitovaly se jen částečně – tzv. Stokesovy fotony, viz Obrázek 22 [29]



Obrázek 22 – Stokesovy fotony [29]

Ramanova spektroskopie se uplatňuje při analýze drog a farmaceutik, barev, inkoustů i vláken. Využití našel i například při ověřování pravosti mapy Vinlandu (obrázek 23), která měla dokázat, že Vikingové byli v Americe před Kolumbem. Objevena byla v roce 1957, a jak už to u podobných objevů bývá, okamžitě byla zpochybněna její autenticita. Byla mnohokrát zkoumána, takže například Cahill rentgenem ukázal, že byla kreslena jen jednou a to na pergamentu z roku 1434, jak pro změnu určili Donahue, Olin a Harbottle pomocí uhlíkového datování. [28]



Obrázek 23 – Mapa Vinlandu [28]

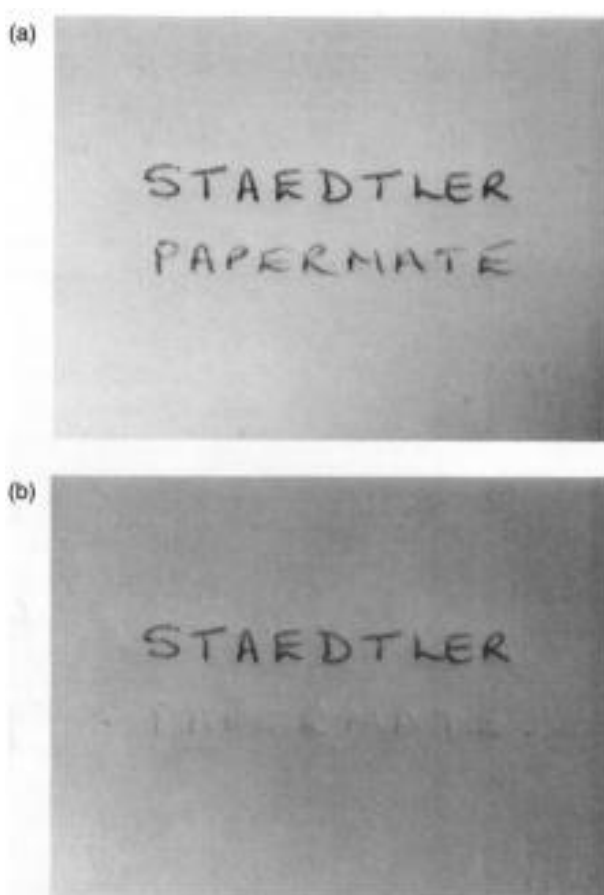
Původní středověké dokumenty psané černým inkoustem často obsahovaly gallotanát železitý, který se pomalu šířil z inkoustu do pergamenu pod ním. Migrující železo po čase způsobuje zažloutnutí a zkřehnutí pergamenu a vytvoří žluté okraje kolem černého písma. Brownová a Clark použili Ramanovu spektroskopii a zjistili, že černý inkoust obsahuje především uhlík a pergamen mapy nevykazuje známky poškození předpokládaného u gallotanátového, nebo také duběnkového inkoustu. Zvláštní přitom je, že kodex *Historia Tartarum*, se kterým byla mapa poprvé nalezena a který je autentický a nezpochybnovaný, byl psán běžným duběnkovým inkoustem. Zdá se, že padělatel nejprve nakreslil žluté linie, do kterých poté vepsal tenčí linku černým inkoustem. Na druhou stranu Cahill proměřil vzdálenosti okrajů černé a žluté linie a nejsou větší, než 100 μm , což zase nahrává teoriím o pravosti mapy, protože takové přesnosti se jinak špatně dvojitým kreslením dosahuje. Stále tedy není o původu této mapy definitivně rozhodnuto. [29]

4.1.5 Ultrafialová a infračervená radiace

Zhruba od 200nm do 400nm, kde už začíná fialové světlo nabírat viditelné vlnové délky, je záření označováno jako ultrafialové. Stejně tak od asi 700nm směrem vzhůru je generová-

no infračervené záření. I když nejsou tato záření lidským okem detekována, ultrafialové a infračervené záření jsou absorbovány stejně jako viditelné světlo.

Protože většina modrých a černých inkoustů absorbuje ultrafialovou barvu, dá se získat měřením jejich absorpce a odrazivosti jen relativně málo informací. Zatímco viditelné světlo je absorbováno různými inkousty podobné barvy velice obdobně, kontrast mezi některými inkousty v jejich infračervené absorpci může být obrovský. (viz obrázek 24). Zda inkousty jsou, nebo nejsou, schopny absorbovat infračervené záření také závisí na chromoforech přítomných v molekulách těchto inkoustů. Některé z nich budou absorbovat rozsah frekvencí, které zasahují až do infračervené oblasti, zatímco v ostatních oblastech bude absorpce omezena na viditelné nebo téměř infračervené záření. Tento fakt však nemá vliv na barvu inkoustu, protože oko není schopné detekovat přítomnost nebo nepřítomnost infračerveného záření, dá se však využít pro identifikaci. [28]



Obrázek 24 – Rozdíl dvou inkoustů v síle infračervené absorpce [28]

Tudíž může absorpční spektrum inkoustu ukázat, že absorpce záření pokračuje z červené až do infračervené části, nebo se absorpce může vytrátit již u konce červené části spektra.

V prvním případě inkoust, ozářený infračerveným zářením, bude světlo absorbovat, v druhém případě naopak bude záření procházet nebo se odrazet skrz, jako by byl inkoust neviditelný nebo průhledný.

Infračervené záření není jen o jedné vlnové délce, ale v celém rozsahu vlnových délek. Pro optimální detekci infračerveného záření zkoumaného dokumentu je považován rozsah vlnových délek mezi 700nm a 1000nm. Jedná se o fotografování, použití emulzí, které mají odpovídající citlivost, a pomocí elektronických prostředků, kde fotoelektrický snímač snímá obraz a činí ho viditelným pomocí zobrazovací jednotky či displeje. [16]

4.1.6 Výmazy

Zatímco použití ultrafialového záření při zkoumání inkoustů má spíše klesající hodnotu při detekci vymazaných spisů, moderní inkousty se ukazují být více produktivní v oblasti luminiscence, excitované viditelným světlem. Inkousty, které jsou neviditelné pod normálním světlem, díky odstranění jejich barevných složek, mohou být detekovány luminiscencí jakýchkoliv zbytků na, nebo těsně pod povrchem. Výmazy jsou vytvářeny třemi způsoby, mechanickým odstraněním inkoustu jeho seškrabáním z povrchu tak, že se odstraní veškerý viditelný inkoust, dále pak tzv. vybělením, které změní barvivo na bezbarvou sloučeninu, a nakonec odstraněním rozpustných barviv vhodnými rozpouštědly. Ve všech těchto procesech je možné, že zůstanou stopy, které budou fluoreskovat nebo luminiskovat při ozáření viditelným světlem.[16]

Jak již bylo uvedeno, fluorescence bude slabá, je proto nutné volit citlivější metody detekce. Opět platí, že zkoumání dokumentu bude ovlivněno luminiscencí papíru, která může být v některých případech větší, než luminiscence zbytků inkoustu. Je proto nutné zkoumat oblast výmazu ve všech možných vlnových délkách. Excitované světlo se někdy může také jevit v různých variacích. Laser je obzvláště užitečným nástrojem pro detekci výmazů v dokumentech, protože disponuje vysokou intenzitou záření, a protože luminiscence, která je v blízké barvě excitovaného světla, může tak být lépe detekována.[28]

Není vždy úplně jasné, co vlastně pozorujeme. Když inkoust na papíru úplně vyschne, určité složky mohou pronikat hlouběji do povrchu papíru, než ostatní. Pokud tyto složky nejsou pod normálním světlem viditelné, není tedy žádný důvod k jejich odstranění při provádění mechanického vymazávání dokumentu. Pokud nejsou rozpustné, nebudou odebrány při rozpouštění barevných složek. Pokud jsou barviva přeměněna na jiné sloučeniny, ty pak mohou luminiskovat, a to i v případě, že původní inkoust nemohl. Důvody toho, k če-

mu došlo, nejsou tak důležité jako fakt, že inkoust může být detekován a jeho zbytky po výmazu identifikovány.

V některých případech není možné tímto způsobem zjistit, co bylo vymazáno, protože ne každý inkoust po vymazání zanechává luminiscenční stopu. Obvykle se však najdou důkazy o tom, že se něco dělo s povrchem papíru. Bude-li fluorescence odlišná od zbytku povrchu dokumentu, je to známka toho, že na papír byla nanesena kapalina. To, samo o sobě, může znamenat, že současná vrstva inkoustu není nutně tou původní.

Pokud jsou písemné záznamy pozměněny odstraněním části inkoustové linky, je možné jednoduchým pozorováním určit, co bylo původně na dokumentu. Ačkoli jsou k dispozici sofistikovanější metody, popsané výše, nemají vždy tak uspokojivé výsledky. Ať už s nebo bez pomoci mikroskopu mohou být detekovány stopy inkoustu nebo pera, a vizuálně tak dát dohromady zbytky inkoustů pro jasnou identifikaci vymazané položky. Takové zkoumání se nejlépe provádí s využitím celé řady světelných zařízení, které jsou k dispozici. Například šikmým osvětlením, díky kterému lze objevit prohlubně, které jsou zbytkem po vymazaném písmu, a také použitím různých barevných filtrů, s cílem zajistit co největší kontrast mezi barvou a papírem. Nejjasnější osvětlení není vždy tím nejúčinnějším, někdy lze získat lepší výsledky i nižší úrovni osvětlení.

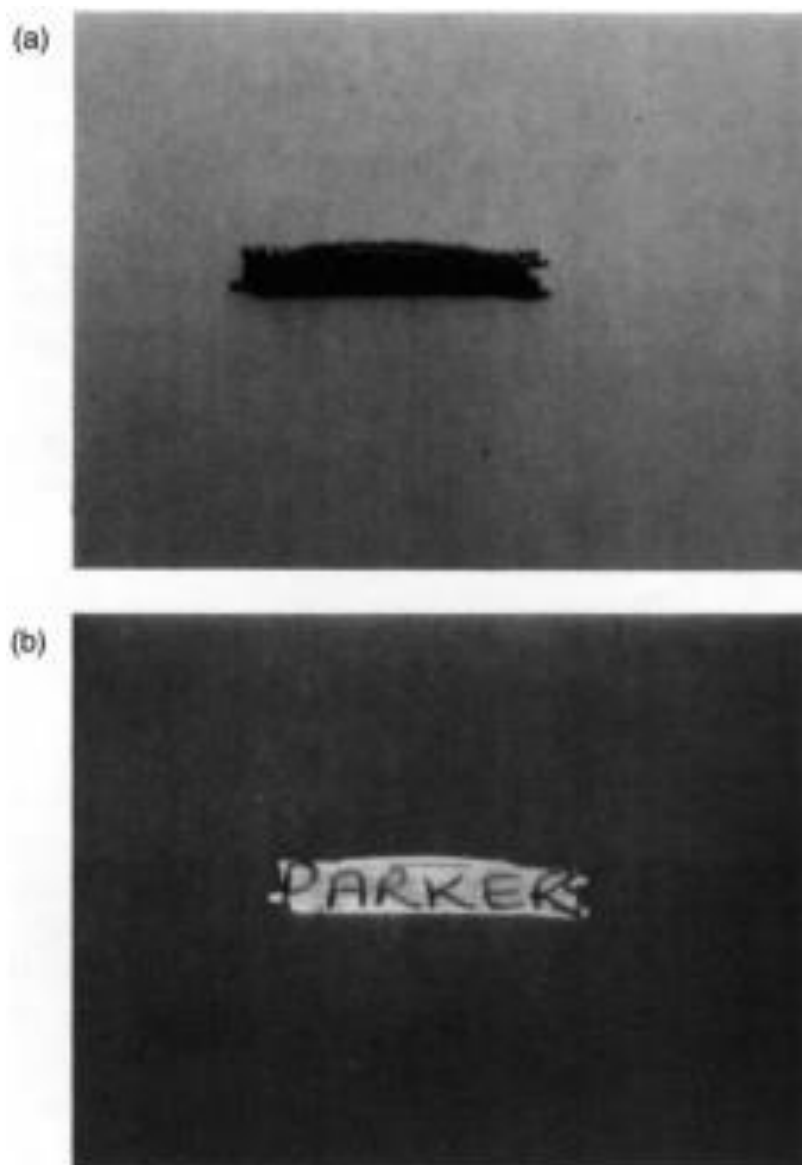
Stopy po smazaném psaní tužkou lze zvýraznit fotografováním za vysoce kontrastních podmínek, nebo s použitím infračerveného filmu. Mohou se také použít elektronické prostředky, pro detekci infračerveného spektra, aby se stopy jevíly jasnějšími.

Velkou pomocí při určování výmazů mohou být také nepřímé metody. Například vroubko- vaný dojem na té části papíru přímo pod vymazaným textem, nebo tzv. "reverzní zobraze- ní" na zadní straně papíru, zjistitelné elektrostaticky. V jednom případě tyto metody, spolu se zesílenou viditelností stopy linie tužky, byly použity pro identifikaci velmi významného vymazaného, tužkou psaného textu.[28]

4.1.7 Zahlazení

Zahlazení neboli přepsání, či přeškrtnání textu je někdy provedeno jiným, než původním inkoustem. Jak již bylo uvedeno dříve, je možné dešifrovat původní text pod infračerve- ným zářením v případě, že překrývající inkoust není schopen absorbovat infračervené zá- ření, kdežto původní ano. Pokud oba inkousty reagují stejným způsobem, bude za těchto

podmínek použití výše zmíněné techniky zbytečné. Nicméně luminiskuje-li jeden z inkoustů, vyřeší to daný problém (viz Obrázek 25).[28]



Obrázek 25 – Rozdíl inkoustů v jejich luminiscenčních vlastnostech [28]

Luminiscenční inkoust, zahrazený ne-luminiscenčním inkoustem, bude viditelný za předpokladu, že zamazávací inkoust neabsorbují luminiscenci. Na druhou stranu, je-li krycí inkoust luminiscenční a zaškrtnutá oblast absorbuje danou fluorescenci, bude zřejmá pouze tmavá oblast, odpovídající tvaru zamazaného textu. Luminiscence krycího inkoustu je potlačena původním inkoustem pod ním. Někdy je k dosažení optimálních výsledků nutná pečlivá kontrola osvětlení a filtračních podmínek.

Byl-li inkoust velmi tvrdě napsán přes původní text, techniky využívající infračervené odrazivost nebo absorpce, v tomto případě nebudou účinné, na druhou stranu mikroskopické vyšetření zde může sehrát svou roli a být schopno problém vyřešit. V případě, že je zaškrťovací inkoust jiné barvy než původní inkoust, volí se speciální filtry tak, aby odfiltrovaly co nejvíce nežádoucí barvy. Fotografování za takových podmínek, které vyzdvihnou největší kontrast pro původní inkoust, a naopak jeho pozadí zobrazí v kontrastu co nejnižším, mohou přepsaný text úplně „odstranit“.

U takovýchto případů je někdy možné přímo identifikovat přepsaný záznam, protože ho je na dokumentu dostatečné množství odkrytého, tedy mimo krycí plochy s původním inkoustem, a může tak poskytnout důkazy o svém původu. Tím, že zvětšíme snímek, pořizovaný za nejvýhodnějších podmínek, a pak na něm "odbělíme" ty řádky, které jsou jasně napsány v přemazávacím inkoustu, jsou části původního záznamu zachovány a jednodušeji čitelné.[28]

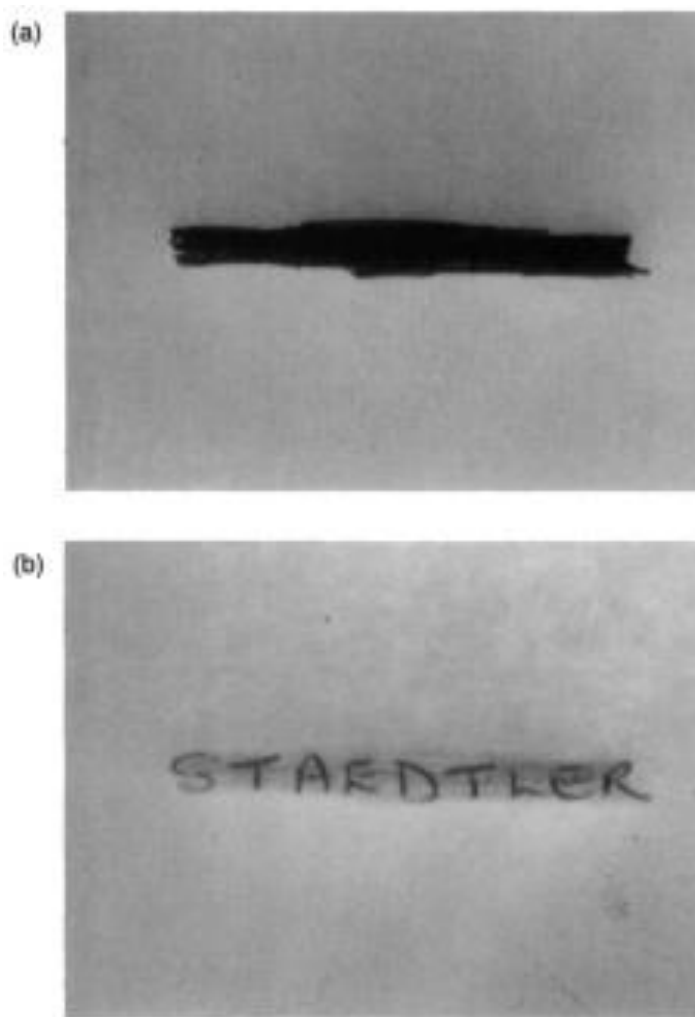
4.1.8 Detekce infračerveného záření

Fotografování bylo první používanou metodou pro detekci infračerveného záření. Před objektiv se umístí specifické filtry, které umožňují průchod pouze záření příslušné vlnové délky, přičemž po průchodu čočkou je obraz zachycen na film citlivý na infračervené záření je použit. Tímto způsobem mohou být získány velmi kvalitní fotografie. Později byly představeny různé konvertory obrazu a systémů CCTV, opět s použitím vhodných filtrů a světelných zdrojů. Následovalo účelně vyrobené zařízení s názvem VSC/1, sestaveno pány Fosterem a Freemanem, kteří skombinovali světelné zdroje, filtry, vizuální zobrazovací jednotky a čočky do jednoho přístroje. Ten následně umožnil provádění celé řady zkoušek v ideálních podmínkách. Následovaly další úpravy zařízení VSC/1 a rovněž se začaly vyvíjet podobné přístroje jinými výrobci, jako je například Docucenter od PROJECTINA AG CH-9435 Heerbrugg a PC1 od ISS, které je používáno v praktické části. Dařilo se začlenit lepší světelné zdroje, techniky vylepšení obrazu a videa, video rekordérů a záznamníků, které umožňovaly okamžitý záznam všeho, co se objeví na obrazovce monitoru.

Zařízení popsaná výše poskytly velmi přesné metody detekce rozdílů mezi inkousty. Některé inkousty obsahují složky, které absorbují spektrum daleko zasahující do infračervené části, a jsou tak detekovatelné v celém rozsahu. Jiné obsahují barviva, která absorbují pouze viditelnou část spektra, a jsou proto neviditelné při pohledu světlem blízkému infračervené oblasti spektra, kolem 730nm. Jiné absorbují dále, a to až do infračervené oblasti, což

je činí "neviditelnými" kolem vlnové délky 800nm. Z tohoto důvodu je možné testovat podobnost mezi inkousty určením, při jaké vlnové délce přestanou absorbovat infračervené záření a stanou se "neviditelnými". V některých případech je takto možné vidět jasný rozdíl mezi dvěma inkousty na dokumentu tak, že jeden zmizí při určité vlnové délce, zatímco druhý zůstane viditelným. Při porovnání dvou inkoustových linek touto metodou je třeba dbát na to, aby se brala v potaz skutečnost, že za stejných podmínek se silnější a intenzivněji napsaná linka bude jevit jasnější než zřetelně slabší linka stejného inkoustu. Tento rozdíl může být špatně vyhodnocen jako rozdíl mezi dvěma inkousty, z nichž jeden absorbuje silněji než druhý.

Druhý efekt různých absorpčních vlastností inkoustů hraje roli v tom případě, kdy je původní záznam jedním inkoustem silně zahlazen či přepsán jiným inkoustem. Je-li přidán inkoust neviditelný pod infračerveným světlem a původní inkoust absorbuje infračervené záření, potom původní může být detekován, jako by nebyl zahlazen, viz obrázek 26.[28]



Obrázek 26 – Rozdíl různých absorpčních vlastností rozdílných inkoustů [28]

Kromě porovnání dvou inkoustů má výše zmíněná technika posuzování vlastností dokumentů v infračervených podmínkách i jiná použití.

Za druhé pomáhá při výkladu a identifikaci razítek, která jsou méně jasná díky vzoru poštovní známky pod nimi. Zamazávací inkousty většiny značek jsou založeny na přidání sazí, které silně absorbují infračervené světlo, zatímco pigmenty tiskařského inkoustu ho absorbovat nemusí. Kontrast je tedy čitelnější, a ve většině případů lze proto poštovní razítko snadno rozpoznat.

Podobný nárůst kontrastu může umožnit identifikace vybledlých nebo vymazaných stop psaných tužkou. Takové linky jsou často mnohem jasnější a výraznější při pozorování v infračervené oblasti světelného spektra, než když jsou pozorovány normálním světlem. Stejná metoda může být použita k detekování stop jiného materiálu, absorbujícího infračervené záření, včetně některých tiskařských inkoustů, které zůstávají i po odstranění většiny materiálu. Ve vzácných případech mohou být stejnou cestou odhaleny i již vymazané psací inkousty.[28]

4.1.9 Infračervená fluorescence

Pokud se při zkoumání dokumentů použije termín „fluorescence“, často dochází k záměně pojmů. Bavíme-li se o fluorescenci, excitované ultrafialovým zářením, používá se termín ultrafialová fluorescence. Naopak infračervenou luminiscencí se rozumí luminiscence, vyzařovaná v oblasti infračerveného záření, přičemž je excitovaná viditelným světlem. Rozpor těchto dvou pojmů je nyní již natolik široce přijímán, že ho nelze změnit, jedině snad z důvodu pedantství.

Infračervená luminiscence spolu s luminiscencí v červené oblasti spektra jsou emitovány jak inkousty, tak i papíry a zbytky po vymazání inkoustů, dopadá-li na ně záření o příslušné vlnové délce. (viz obrázek č. 27). Stejně tak, když je fluorescence excitovaná ultrafialovým zářením, má vyšší vlnovou délku a běžně se vyskytuje ve viditelné oblasti spektra, tak rovněž viditelné světlo excitované fluorescencí je pouze v delších oblastech vlnových délek ve viditelném spektru nebo v infračervené oblasti. Účinnost excitací luminiscence není velká, proto je třeba vysoké intenzity, aby vytvořila detekovatelný výsledek. S infračervenou luminiscencí je rovněž problém v tom, že na rozdíl od excitace ultrafialovým zářením, je málo nebo vůbec detekovatelná přímým pohledem. Je tedy nutné použít buď fotografické, nebo elektronické prostředky. Vhodné zdroje pro vybuzení infračervené luminiscence zajišťuje užití intenzivního wolframového vlákna, halogenové lampy nebo xe-

nonové obloukové lampy, s vhodnými skleněnými nebo želatinovými filtry, nebo s nasyceným roztokem síranu měďnatého. Ty umožňují excitovanému, zeleno-modrému, záření projít, ale zabraňují infračervenému nebo červenému světlu ze zdroje dopadnout na dokument, čili částečně zářit. Je rovněž třeba další ochrany proti nahodile silným zdrojům světla, protože ty rovněž můžou zastínit slabé luminiscence.[31]



Obrázek 27 – Ukázka aplikace luminiscence ve forenzice [31]

Luminiscence může být rovněž detekována fotografováním nebo videokamerou s vhodně citlivými čipy, ale většinou se používají speciální zařízení, jako je VSC/1 nebo PC1, které je podrobně popsáno v praktické části této diplomové práce. Různé luminiscence z různých inkoustů mohou být detekovány pomocí řady filtrů a výsledky posléze zaznamenány na určité záznamové médium.

Rozšířeným využitím zeleno-modrého světla pro excitaci luminiscence je použití světla z laseru. Výhodou laseru je, že světlo je velmi intenzivní a jednobarevné (monochromatické), takže odpadá potřeba odfiltrovat nežádoucí záření. To znamená, že může být detekována viditelná luminiscence mnohem blíže k vlnové délce excitovaného světla. Pozorování viditelné luminiscence se provádí skrz filtry, které jsou speciálně vyrobené tak, aby vrušily vlnové délky laseru. Tyto filtry jsou normálně začleněny do konstrukce ochranných brýlí, které jsou v každém případě nezbytné k ochraně očí při provádění výše zmíněných experimentů. Luminiscence může být zaznamenána buď fotoelektrickými, nebo fotografic-

kými metodami, které jsou jedinými způsoby detekce záření emitovaného v infračervené oblasti [31]

Infračervená luminiscence se ukázala nesmírně hodnotnou metodou v rámci vyšetřování dokumentů, dokonce daleko přesahující význam účinků ultrafialového záření.

I když mnoho inkoustů luminiskuje v infračerveném spektru, některé tuto vlastnost mít nemusí (viz obrázek 27). Existuje pak také další varianta, a sice že infračervená luminiscence různých inkoustů se může lišit, a to jak v rozmezí vlnových délek, při které se luminiscence objeví, tak i ve své intenzitě. Protože se vyšetření inkoustů obvykle provádí na papíru, který však sám o sobě může vyzařovat fluorescenci, různé inkousty budou vypadat jinak na různých papírech. V případě, že fluorescence papíru je silnější než u inkoustu, bude se zdát, že inkoust fluorescenci nevyzařuje. Ve většině případů jsou však inkousty zkoumány za účelem srovnání dvou vzorků na jednom dokumentu. Typickým případem je přidání nebo změna textu, která může být provedena až po vzniku původního dokumentu.

Pokud je nutné porovnat inkousty z pera nebo lahvičky, s inkoustem na dokumentu, může být zanechána stopa daným zkoumaným inkoustem na stejné stránce. Může pak být provedeno srovnání pomocí infračervené luminiscence.

O určování rozdílů mezi různými inkousty bylo diskutováno výše, a sice za pomoci absorpce nebo odrazu infračerveného záření. Pozorování zkoumaných záznamů na dokumentu v takových podmínkách, které budou detekovat infračervenou luminiscenci, často rozliší mezi dvěma inkousty, ať už mohou být odděleny pomocí infračerveného odrazu, či nikoliv. V některých případech se rozdíly v luminiscenci mohou lišit pouze změnou vlnové délky excitované radiace. Opět platí, že je třeba dbát na to, že malý rozdíl mezi dvěma inkousty může být způsoben různými množství inkoustu na povrchu zkoumaného dokumentu.[31]

Skutečnost, že luminiscence bude potlačena těmi materiály, které absorbují jejich vlnovou délku, může také působit komplikace. Inkoust absorbující záření na, řekněme, 750nm, může také obsahovat složku, která emituje luminiscenci v té samé vlnové délce. Tento fakt může mít za následek to, že záření nebude detekovatelné, protože je absorbováno samou sebou. V případě, že od sebe obě složky oddělíme, fluorescenci již pozorovatelná bude, tato situace může nastat, například když se navlhčí povrch vodou nebo jiným rozpouštědlem, které odstraní fluoreskující komponenty z těla inkoustu. Pokud se tak stane pouze na části dokumentu, luminiscence této části může být chybně vyhodnocena jako indikace více

různých inkoustů. Obecně však platí, že infračervená luminiscence může doplňovat infračervenou odrazivost při rozlišování mezi dvěma různými inkousty v jednom dokumentu.

Komplikace, způsobené relativní fluorescencí, narostou, protože vlnové délky, při kterých se vyskytují, se mohou lišit. Změna filtru před detektorem má za následek to, že mohou být pozorovány různé účinky. Jeden inkoust se jeví jasnějším než jeho pozadí na jedné vlnové délce, druhý však méně. Vliv absorpce světla při určité vlnové délce také sníží fluorescenci inkoustu, takže fluorescence z papíru bude větší.

Srovnání inkoustů na stejném pozadí, a to pomocí luminiscencí inkoustů, tedy závisí na volbě systému, který umožní jeho detekci, a aby byl schopen pracovat v mnoha různých vlnových délkách, od 0nm do 900nm. Stejný systém nebo zařízení mohou být použity pro detekci vymazaných či pozměněných dokumentů. Fotografické metody vyžadují samostatnou expozici, která je jedinečná pro každou vlnovou délku, ale zařízení, jako je VSC/1 nebo PC1, jsou přímo určena pro tento účel. Jejich flexibilita umožňuje vyšetřování v rámci široké škály různých vlnových délek a světelných podmínek. [31]

4.1.10 Ultrafialová fluorescence

Ultrafialová fluorescence, prokudovaná papírem, může mít mnoho různých variací, a, jak již bylo popsáno výše v této kapitole, může být rovněž použita jako prostředek pro testování toho, zda jsou si dva nebo více kusů podobné, nebo v čem a jak moc odlišné. Ostatní materiály, jako jsou lepidla, lepicí pásy a těsnící vosky se mohou rovněž lišit v jejich fluorescenci. Použitím rozpouštědel nebo chemických látek může na papíru dojít ke změně fluorescence, tak, že i když úplně vyschnou a zjevně nezanechají žádné stopy, ukáží oblasti různých fluorescencí, zkoumáme-li dokument pod ultrafialovým zářením.

Červené inkousty mohou fluoreskovat při dopadu záření z UV lampy, proto jsou schopné poskytnout důkazy o tom, zdali se jeden inkoust liší od druhého, i když jsou oba podobného vzhledu. Fluorescence o vyšším rozsahu vlnových délek v ultrafialové oblasti může být dosaženo ultrafialovým zářením o nižší vlnové délce, přičemž byly v tomto směru již zaznamenány určité rozdíly mezi inkousty. Vzhledem k tomu, že fluorescence není ve viditelné oblasti a nemůže tak být pozorována, je pro její detekci zapotřebí speciálních zařízení. To, že rozdíly, které mohou být detekovány pomocí těchto prostředků, lze stejně tak detekovat i jinými technikami, mělo za následek, že se tyto metody nepoužívají příliš frekventovaně. [28]

Inkousty, které jsou chemickým působením činěny neviditelnými, můžou také zanechat stopy na papíře. Tyto inkousty, pokud nejsou zředěny do vodného roztoku, mohou být detekovány díky své fluorescenci, dopadá-li na ně emitované ultrafialové záření; ultrafialové vyšetření může tedy odhalit písmo, které bylo již vymazáno. Tato metoda byla hojně užívána v minulosti, protože u staršího složení inkoustu bylo více pravděpodobné, že zanechá důkaz umožňující jeho detekci. Infračervená luminiscence, jak je popsáno v následující kapitole, je pro identifikace dnešních inkoustů, na bázi barviva, mnohem užitečnější.

Nicméně některé moderní inkousty jsou vyrobeny tak, aby byly právě viditelné pouze v ultrafialovém záření. Jedná se o speciální přípravky používané k označení objektů, které umožňují jejich následnou identifikaci, jsou-li odcizeny. Existují rovněž takové inkousty, nejčastěji používané pro podepisování různých důležitých dokumentů, které jsou z bezpečnostních důvodů viditelné pouze při pohledu pod ultrafialovým zářením. Pro jejich vzácnost a nedostupnost jsou tyto "neviditelné" inkousty jen stěží dostupné, a nevyskytují se proto v mnoha laboratorních vyšetřeních. [28]

4.2 Destruktivní techniky

Do výše popsaných metod zkoumání inkoustů nebyly zahrnuty ty, kde je potřeba způsobit dokumentu jakékoliv škody. Mají tu výhodu, že inkoust, ať vymazaný nebo ne, papír, a jakékoliv jiné znaky na psaném dokumentu, nejsou v žádném případě jakkoliv ovlivněny. Mohou být provedeny i jiné testy, poskytující dodatečné informace, které však vyžadují vzorek inkoustu nebo jiných materiálů a které musí být odebrány. Výše zmíněné techniky sestávaly z metod, používaných k testování papíru, které vyžadují odběr vzorku, na kterém se dá pracovat. Stejně tak mohou být podrobněji zkoumány složky psacích inkoustů, ať už jsou z propisovací tužky, plnicího pera, nebo fix s vláknitým hrotem, nejen pomocí chemických technik, které však nelze provádět mimo papír.

V případě, kdy je důležité zjistit, zda jsou dva inkousty shodné, či odlišné, a nemohou být rozlišeny vizuálními nebo jinými nedestruktivními prostředky, je další práce na dokumentu nezbytná. Předtím, než dojde k jakémukoliv poškození dokument, je důležité vytvořit trvalý záznam o údajích, které mají být testovány. Pro tyto účely je nejlepší vysoce kvalitní fotografie, ale v případě, že fotografování není možné, postačí i fotokopie.

Metody, používané pro pokročilejší zkoumání inkoustů a obvykle sloužící ke srovnávacím účelům, může využívat změn, nalezených buď v barvivo, nebo v jiných složkách inkoustu. Barviva poskytují nejlepší příležitosti k rozlišení mezi dvěma různými inkousty. [28]

4.2.1 Chromatografie

Chromatografie je souhrnné označení pro skupinu fyzikálně-chemických separačních metod. Molekuly analytu se u všech typů chromatografických separací rozdělují mezi stacionární a mobilní fázi. Dělení je založeno na rozdílné distribuci složek směsi mezi mobilní a stacionární fázi. Společným rysem všech chromatografických dělení je vzorek jako směs látek – složek, dělí se na jednotlivé složky působením dvou vzájemně se nemísících fází:

Vzorek je umístěn na počátek nepohyblivé fáze, kterou se pohybuje fáze pohyblivá. Jednotlivé složky směsi jsou uváděny do pohybu (strhávány) pohyblivou fází a nepohyblivou fází zachycovány - brzděny v pohybu. Na různé složky působí různě velké síly brzdící a případně i různě velké síly urychlující, takže jednotlivé složky postupují nepohyblivou fází různými rychlostmi. Na počátku tvořily jedinou směs, ale po určité době pohybu urazí různé vzdálenosti, a tak se vzájemně od sebe oddělí. [16]

Rozdělení chromatografických metod:

❖ Podle skupenství mobilní fáze:

- kapalinová (LC, HPLC)
- plynová (GC)

❖ Podle uspořádání stacionární fáze:

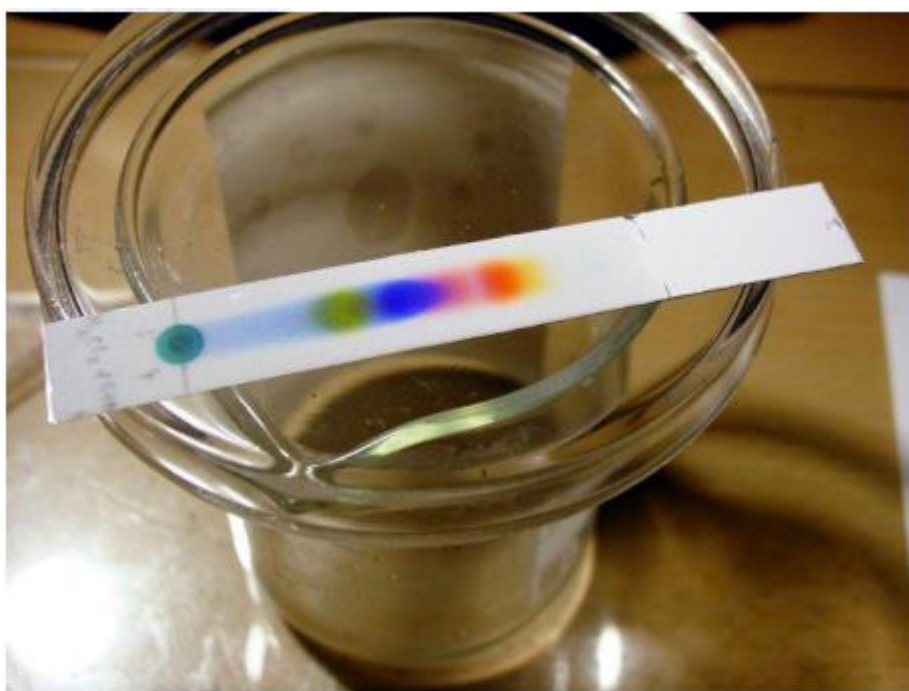
- kolonová chromatografie
- plošné techniky (otevřené systémy) - papírová (PC, tenkovrstvá a vysokoúčinná kapalná chromatografie (TLC, HPTLC) [16]

4.2.2 Chromatografie na tenké vrstvě

Chromatografii na tenké vrstvě tvoří často nepohyblivou fází tenká vrstvička drobných zrněk silikagelu na hliníkové folii. Na počátek vrstvy je vložena kapka vzorku – inkoust (směs několika barevných látek), která se vsákne. Tenká vrstva se postaví do vhodného rozpouštědla (směs ethanol - voda), vzorkem směrem dolů (skvrna vzorku není ponořena). Rozpouštědlo se nasává a vzlíná, když dosáhne ke skvrně vzorku, rozpouští jeho složky a

unáší je vzhůru vrstvou. Složky se na silikagelu výše z roztoku opět sorbují – zastavení pohybu - a pak opět rozpouštějí v nově přicházejícím rozpouštědle. Neustále se opakovaně ustaluje rovnováha dle rozdělovacího poměru pro každou látku.

Molekuly jedné složky stráví v průměru s celkové doby určitý čas v rozpouštědle – pohybují se - a určitý čas jsou adsorbovány na silikagelu – stojí. Složky s různými rozdělovacími poměry se pohybují po tenké vrstvě různě rychle a vytvoří nakonec samostatné skvrny. Na obrázku je vidět, že nejrychleji postupovalo barvivo žluté a nejpomaleji zelené. [32]



Obrázek 28 – Ukázka výsledku chromatografie na tenké vrstvě [32]

Samotné rozdělení by ani nebylo tolik zajímavé, kdyby se tak látky nedělily vždy stejně. V laboratoři tedy stačí mít připravené standardy a sledovat, jestli se chovají stejně jako analyzovaný vzorek. Každé chemické individuum se chová odlišně podle použité vyvíjecí soustavy (směs rozpouštědel použitá k vyvíjení chromatogramu). V různých soustavách tak můžeme pozorovat skvrnu (popř. skvrny) jedné látky v různé vzdálenosti od startu k čelu (místo kam až dovlínala mobilní fáze). Tuto skutečnost vyjadřuje bezrozměrná veličina nazývaná retenční (retardační) faktor R_f . Ten lze vypočítat [32] :

$$R_f = VM/VR \quad (2)$$

kde: VM - vzdálenost středu skvrny od startu

VR - vzdálenost čela od startu.

Retenční faktor závisí na konkrétní vyvíjecí soustavě, na povaze látky ale i na dalších faktorech (např. na teplotě, množství nanesené látky). Dodržíme-li však laboratorní teplotu lze R_f faktor používat jako jednu z orientačních hodnot pro zkoušenou látku (vždy se musí uvádět s použitou soustavou). Přesto se téměř vždy používá určitý standard např. pro porovnání R_f . [32]

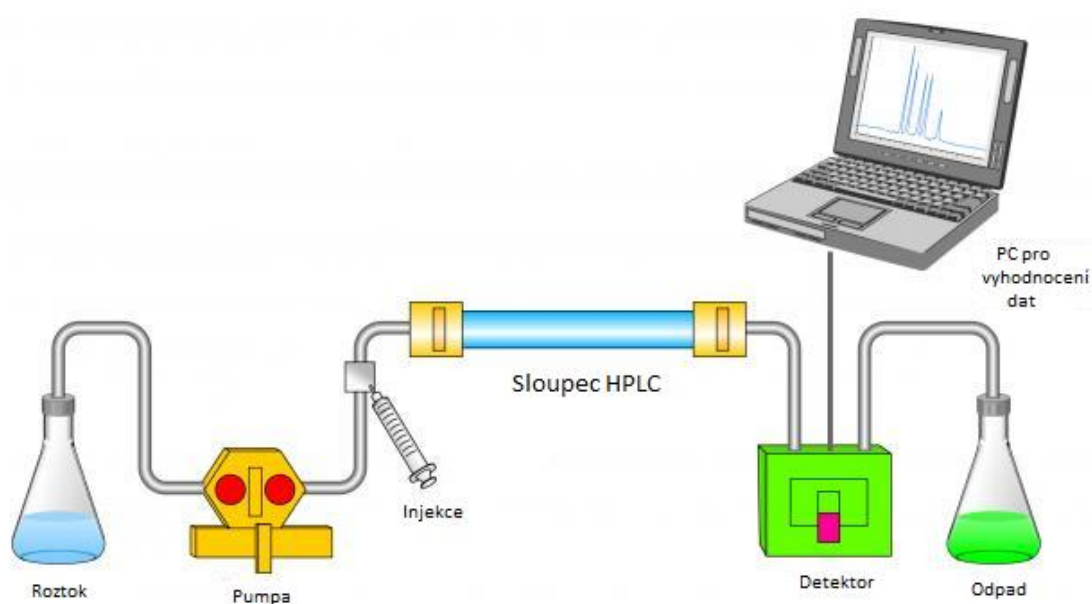
Ne všechny látky jsou však barevné a tedy ne vždy provádíme přímé hodnocení chromatogramu. Ke zviditelnění skvrn můžeme použít chemické činidlo a chromatogram tzv. "vyvolat". (např. nástřik ninhydrinem pro zviditelnění aminokyselin, vložení do par jódu apod., viz Reakční činidla v TLC). Chromatogramy se také často pozorují pod UV světlem, které řada látek specificky pohlcuje a proto jsou bezbarvé skvrny mnoha látek na TLC pod UV světlem barevné. Tuto vlastnost mají např. všechny aromatické organické sloučeniny (absorbci UV vykazuje benzenové jádro). Některé látky na TLC také světélkují (např. kyselina anthranilová a chinolindiony mají po ozáření UV výraznou fialovou fluorescenci, kys. salicylová fluoreskuje modře). Tato vlastnost však závisí na vlnové délce UV lampy a povaze fluorescenčního indikátoru dané TLC desky (uvedené údaje jsou vztaženy k vlnové délce 254 nm (tj. standardní vlnová délka laboratorních UV lamp). [32]

4.2.3 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie – HPLC

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) se řadí mezi nejčastěji používané separační metody. Vyniká vysokou účinností, dobrou opakovatelností a robustností. Tato metoda je vhodná pro dělení organických méně těkavých kapalných a tuhých látek, které jsou rozpustné ve vodě, v organických rozpouštědlech nebo zředěných kyselinách.

HPLC je založena na separaci analytů na základě jejich distribuce mezi stacionární a mobilní fází, která je vždy kapalná. Stacionární fáze je zakotvená v chromatografické koloně. Během separace dochází k mnoha typům interakcí. Uplatňují se interakce analytů s mobilní fází, interakce mobilní fáze se stacionární fází a sorpce analytů na stacionární fází.

Vysokoúčinný kapalinový chromatograf pracuje tak, že jsou vzorky dávkovány dávkovacím ventilem do mobilní fáze. Ta unáší jednotlivé složky vzorku na kolonu, kde dochází k opakovanému ustanovení rovnováhy mezi mobilní a stacionární fází a k separaci analytů dle fyzikálně-chemických vlastností. Po průchodu separační kolonou jsou analyty v mobilní fázi detekovány v průtokové cele detektoru. Měřenou veličinou je fluorescence, absorbance, index lomu, elektrická vodivost. Výstupem z detektoru je grafický záznam závislosti odezvy detektoru na retenčním čase, tj. chromatogram, na němž se hodnotí plocha nebo výška píku. Kvantitativní analýza se provádí na principu odečtení výsledku z kalibrační křivky.[33]



Obrázek 29 – Schéma HPLC [33]

Jako náplň kolon (stacionární fáze) se používají polární nemodifikované adsorbenty (silikagel, méně často oxid hlinitý) nebo náplně s chemicky vázanými stacionárními fázemi na silikagelovém nosiči. Jako mobilní fáze se většinou užívá voda, organická rozpouštědla a jejich směsi.

Je-li stacionární fáze polárnější než mobilní fáze, mluvíme o systémech s normálními fázemi. V opačném případě jde o systém s obrácenými fázemi. [33].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Pro praktickou část této diplomové práce bylo shromážděno 6 vzorků inkoustů, které byly podrobeny měření na přístroji PC1 - Photon Counting Steady-State Spectrofluorometer od společnosti ISS. Zkoumány byly jejich luminiscenční vlastnosti v kapalně podobě, a to z toho důvodu, že oproti částečné složitosti zkoumání pevných vzorků je tento způsob zcela nedestruktivní a snáze proveditelný.

Cíle praktické části této diplomové práce:

- ❖ Navrhnout experiment měření luminiscenčních vlastností vybraných inkoustů.
- ❖ Analyzovat a vhodně interpretovat získaná data.
- ❖ Vyhodnotit vhodnost použití zvolené metody.
- ❖ Stručně nastínit možnosti aplikace luminiscenční spektroskopie ve forenzice.

Většina vyšetření inkoustů se provádí pomocí Ramanovy spektroskopie[8] nebo chromatografie[28], proto byla zvolena odlišná metoda, a sice luminiscenční spektroskopie. Tato metoda zkoumá inkousty v původním kapalném stavu. Hustotu takového vzorku je třeba zředit, kvůli možnosti pohlcení případné luminiscence okolním nezředěným inkoustem.

Volba kapalného vzorku však byla podnícena dalšími důvody:

- ❖ Možnost zkoumání luminiscenčních vlastností inkoustů bez jakýchkoliv příměsí (zbytků papíru, nečistot, atd).
- ❖ Kapalným inkoust obsahuje všechny složky v původním stavu (oproti již zaschlému inkoustu).
- ❖ Zkoumání kapalného vzorku je nedestruktivní.

6 METODY

Celý průběh měření se odehrával v laboratoři číslo 314, na Fakultě aplikované informatiky Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně. Bylo dbáno na řád laboratoře a splněny všechny jeho požadavky na ochranu a bezpečnost.

6.1 Měřicí soustava

Měření probíhala na přístroji PC1 – fotony-počítající spektrofluorometr od společnosti ISS. Vizualizace byla zajištěna programem Vinci 2. Při měření byla dále použita křemenná kyveta, destilovaná voda a nastavitelná pipeta. Detaily jsou popsány níže v kapitole

PC1 je vysoce citlivý, kompaktní, počítačem řízený a fotony-počítající spektrofluorometr, určený pro použití ve fyzikální chemii, biochemii, fyziologii, neurochemii, molekulární biologii a při analýzách v oblasti životního prostředí. Pro účely tohoto měření bylo využito nabízených funkcí a volitelných nastavení. Vzhledem k hustotě nezředěných inkoustů byl filtr otevřen na 100%, aby byla naměřena maximální intenzita luminiscence.



Obrázek 30 – PC1 - ISS

6.1.1 Specifikace přístroje PC1

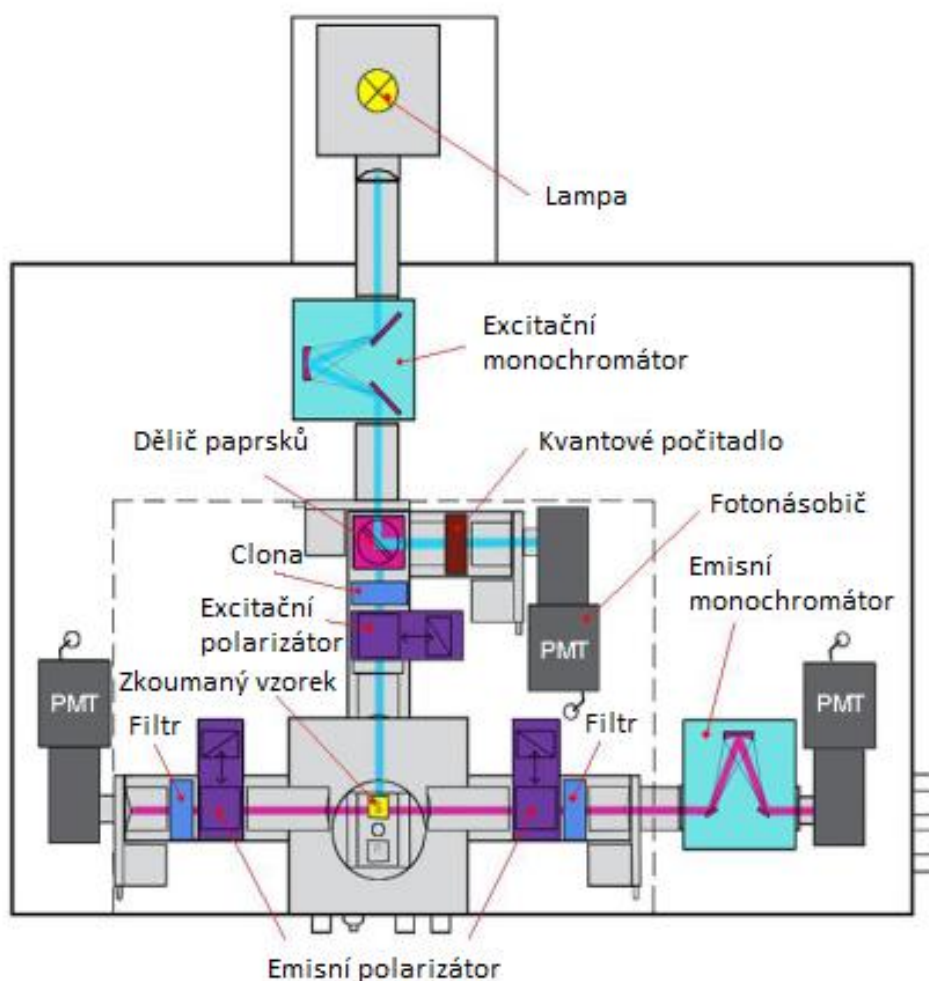
V následující tabulce jsou popsány základní specifikace spektrofluorometru PC1, vlastnosti jednotlivých komponentů i rozsah a volitelnost jejich použití. Zmíněny jsou rovněž požadavky na zdroj napájení, rozměry, hmotnost, stejně tak i softwarové požadavky.

Tabulka 1 – Specifikace PC1 - ISS

Světelné zdroje	Vysokotlaká xenonová výbojka o výkonu 300 watt, jas 45 mW/nm při 275 nm
Monochromátory	Ohnisková vzdálenost: 100mm nebo 200mm Lineární disperze: 8nm/mm nebo 4nm/mm Sledovací rychlost 160 nm/s
Přesnost vlnové délky	±0.2 nm
Opakovatelnost vlnové délky	±0.25 nm
Sledovací rychlost	160 nm/s
Čočky	UV-grade fused silica lenses
Polarizátory	UV-grade Glan-Thompson, 10x10 mm, L/A=2.0 UV-grade Glan-Thompson, 14x14 mm, L/A=2.0 UV-grade Glan-Taylor, 10x10 mm, L/A=2.0 (pro vysokovýkonné lasery)
Dynamický rozsah	Lineární až do 4 milionů výpočtu/sekundu
Senzitivita	800 fM
Požadavky na operační systém	Windows XP, 7
Zdrojové požadavky	Rozvodná síť: 110-240 V, 50/60 Hz, 400 VAC
Rozměry	885 mm (délka) x 600 mm (šířka) x 330 mm (výška) S lampou: 885 mm (délka) x 835 mm (šířka) x 330 mm (výška)
Váha	40 kg

6.1.2 Schéma přístroje PC1

Rozmístění jednotlivých komponentů celého přístroje PC1 je vyobrazeno na následujícím schématu. Je zde rovněž zobrazena cesta světelného paprsku, přičemž modře je znázorněn původní emitovaný paprsek a růžově paprsek, již obsahující informace o vlastnostech zkoumaného vzorku.



Obrázek 31 – Schéma PC1 – ISS

6.1.3 Kyveta

Ke zkoumání luminiscenčních vlastností kapalných vzorků v přístroji PC1 slouží kyveta, což je laboratorní nádobka s určitými parametry a vlastnostmi. Jedna z nejdůležitějších je minimální vlastní luminiscence, která by jinak ovlivňovala výsledky měření. Pro účely tohoto měření byla použita kyveta z křemenného skla typu 23/Q10. Při manipulaci s kyvetou je třeba dbát několika zásad, které jsou popsány v následující kapitole. Tato kyveta je vhodná pro rozsah vlnových délek od 170 do 2700nm, a má následující parametry:

Tabulka 2 – Parametry kyvety 23/Q10

Typ	Optická délka (mm)	Vnější šířka (mm)	Vnější délka (mm)	Vnější výška (mm)	Vnitřní šířka (mm)	Vnitřní délka (mm)	Nominální objem (ml)	Počet leštěných skel	Počet leštěných základů
23-Q-10	10	12.5	12.5	48	10	10	3.500	4	1

6.1.4 Další vybavení

K provádění měření za co nejpřesnějších podmínek sloužila nastavitelná pipeta, díky které probíhalo přesné dávkování jednotlivých složek výsledného roztoku. Pomocí jednoúčelových plastových špiček nedocházelo ke kontaminaci vzorků ani destilované vody, která byla rovněž požívána pro ředění vzorků a vyplachování kyvety.



Obrázek 32 – Kyveta 23/Q/10

6.2 Postup měření

Detekce luminiscence je velmi citlivou metodou, proto je velmi náchylná na nepřesnosti při měření a přítomnost nečistot, ať už přítomných ve zkoumaném vzorku, nebo při nesprávném zacházení se samotnou kyvetou. Je proto třeba zacházet s kyvetou velmi opatrně a vyvarovat se jejímu znečištění.

Před začátkem experimentu je doporučeno změřit emisní vlastnosti každého komponentu, které jsou při experimentu používány, zvláště. Pokud bude některý z nich vykazovat značnou fluorescenci, je třeba to brát v úvahu při dalších krocích experimentu.

Dalším nežádoucím faktorem při zkoumání luminiscence je přítomnost Reyleighova rozptylu, který je způsoben tím, že laserový paprsek nejčastěji excituje elektron v základním stavu do virtuálního stavu, a při návratu z virtuálního stavu zpět se vyzáří foton se stejnou vlnovou délkou, jakou měl původní foton. Tím vzniká Rayleighův rozptyl, který nenes

žádnou analytickou informaci. Ve spektrální analýze nemá takto vyzářený foton žádné využití a je proto třeba vyhnout se případné dezinterpretaci získaných dat

6.2.1 Nastavení PC1 – ISS

Na spektrofluorometru PC1 byla nastavena 100% propustnost clony, zdroj byl nastaven na hodnotě proudu 15 A, filtry nebyly použity. Následovalo nastavení přístroje pro zkoumání kapalného vzorku a určení hodnot excitace a emise. Tato nastavení probíhala opakovaně pro každý zkoumaný vzorek, jelikož každý z měřených inkoustů vyžadoval vlastní nastavení excitační vlnové délky pro přesné určení jeho luminiscenčních vlastností.

6.2.2 Volba emisních a excitačních spekter

Pro stanovení emisních a excitačních spekter je třeba spustit program Vinci 2.

Před začátkem samotného sběru dat je doporučeno ověřit, zda jsou správně zadána všechna nastavení monochromátoru, k tomuto účelu slouží nápověda pod tlačítkem F8. Rovněž je třeba zvolit výchozí adresář, do něhož se budou ukládat získaná data.

- ❖ **Emisní spektrum** udržuje vlnovou délku excitace stálou. Optimální excitační vlnová délka je často zvolena na maximální absorpci. Emisní monochromátor pak skenuje emisní spektrum pro danou excitační vlnovou délku
 - **Volba optimálního emisního spektra** - k získání emisního spektra (excitační monochromátor je nastaven na pevné vlnové délce, zatímco emisní monochromátor skenuje), je třeba začít vždy asi 10nm nad excitační vlnovou délkou a vyhnout se tak většině Rayleighova rozptýleného excitačního záření (elastický rozptyl). Na místě, kde je emise fluorescence nejslabší, je pak doporučeno stanovit konec spektra skenovaných vlnových délek. Pokud je signál příliš slabý, je možné zvýšit intenzitu excitačního záření zvýšením aktuálního příkonového proudu lampy. 15A poskytuje nejlepší stabilitu intenzity. Není-li intenzita stále dostatečně silná, je možnost nahradit 0,5mm štěrbinu excitačního monochromátoru s 1mm štěrbinami atd.
- ❖ **Excitační spektrum** skenuje excitační monochromátor a udržuje emisní monochromátor na pevné vlnové délce. Vlnová délka emisí se často volí při maximální intenzitě emisního spektra.

- **Volba optimálního excitačního spektra** - z naměřených absorpčních spekter lze vyvodit nejvhodnější excitační vlnovou délku, odpovídající hodnotě maximální absorpce. V případě, že vzorky nemohou být ředěny a optická hustota (OD) při maximální vlnové délce absorpčního píku je větší než asi 0,15 / cm, je možné použít kyvetu o menších duálních optických dráhách. Je rovněž možné zvolit alternativní excitační vlnovou délku v blízkosti vrcholu absorpce, ale s nižším OD, tedy menším vnitřním efektem filtrů. Excitační spektrum se zjišťuje v případě, že je optimální excitační vlnová délka buzení neznámá.

6.2.3 Zacházení s tekutými vzorky

Po předchozím nastavení přístroje PC1, optimalizaci softwaru a získání optimálních emisních a excitačních vlnových délek, je při zacházení s kyvetou a tekutými vzorky při měření luminiscenčních vlastností třeba postupovat podle následujícího postupu:

1. Na nastavitelné pipetě navolit optimální hodnotu objemu kapaliny, přičemž hodnota nesmí překročit maximální kapacitu kyvety (v našem případě 3,5ml).
2. Odebrat tekutý vzorek inkoustu a aplikovat jej do kyvety.
3. V případě roztoku je nejprve třeba nabrat požadovaný objem destilované vody, nalít do kyvety, a teprve pak přimíchat zvolené množství samotného inkoustu.
4. Kyvetu s vzniklým roztokem je třeba zavíčkovat a dokonale promíchat, aby došlo k rovnoměrnému rozložení všech složek roztoku v kyvetě.
5. Kvůli možné těkavosti a nepředpokládanému chování vzniklého roztoku je třeba kyvetu po promíchání odvíčkovat.
6. Nakonec kyvetu vložit do vzorkovny přístroje PC1

Po dokončení jednotlivých měření je pak třeba kyvetu důkladně vypláchnout pomocí destilované vody, nechat oschnout a zamezit jejímu kontaminování kontaktem s nečistotami. Při práci s nastavitelnou pipetou je tento problém vyřešen jednoúčelovými plastovými špičkami, které se po každém jenom měření vymění. Celý experiment musí probíhat v souladu s bezpečnostními předpisy dané laboratoře.

7 MATERIÁL

Tato kapitola je věnována charakterizaci inkoustů, použitých při zkoumání. Oproti původním předpokladům bylo třeba provést několik úprav samotných vzorků.

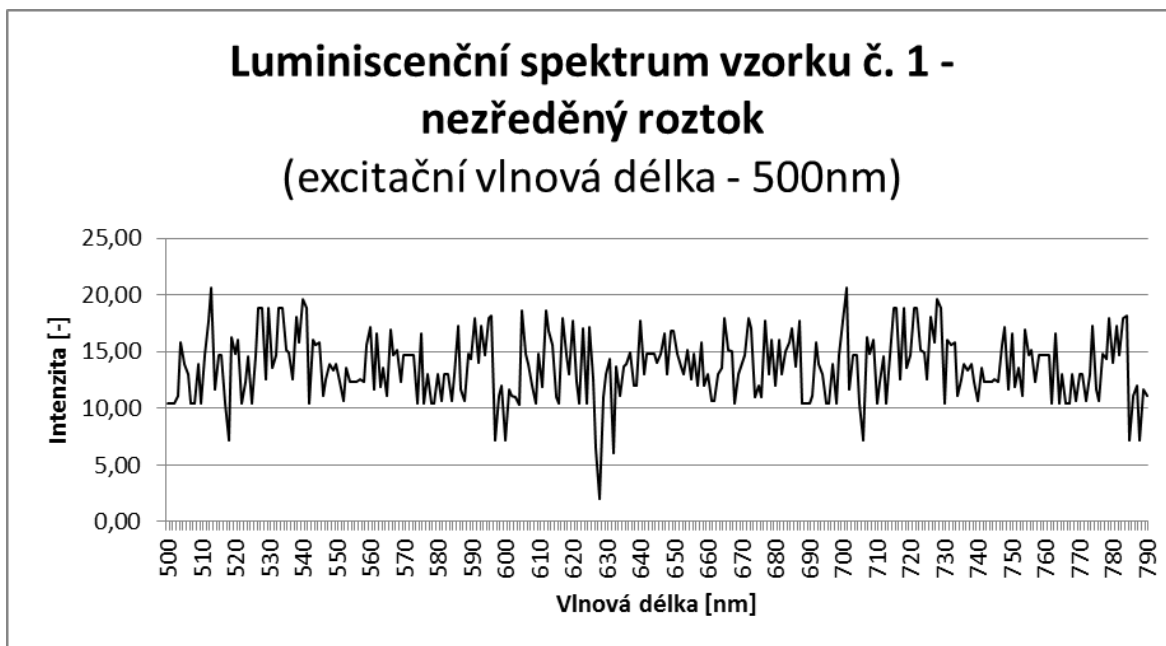
7.1 Volba inkoustů

Pro měření bylo nashromážděno 6 vzorků inkoustů, modré a černé barvy. Byly vybrány nejčastěji používané a nejprodávanější typy. Porovnány byly 3 vzorky inkoustů různých odstínů černé od stejné firmy a 3 vzorky modré barvy od různých výrobců. Vzorky byly následně označeny čísly 1 – 6. Pomocí výše zmíněného návodu byla stanovena excitační spektra jednotlivých inkoustů, viz Tabulka 3, která byla následně použita pro zkoumání emisních spekter.

První měření byla prováděna na nezředitelných vzorcích jednotlivých kapalných inkoustů, ale pro téměř neměřitelné výsledky byl inkoust zředěn do roztoku destilované vody. Postupným zkoušením byl nakonec pro každý inkoust stanoven optimální poměr, viz. Tabulka 3, který byl následně použit při měření. Vzhledem k rozdílným hustotám a koncentracím modrých a černých inkoustů byly zvoleny odlišné koncentrace výchozích barev. Rozdíl výsledků pro nezředitelný inkoust a zředěný roztok je vyobrazen na následujícím příkladu, ze kterého je jasné, že data, získaná po smíchání s destilovanou vodou jsou mnohem směrodatnější.

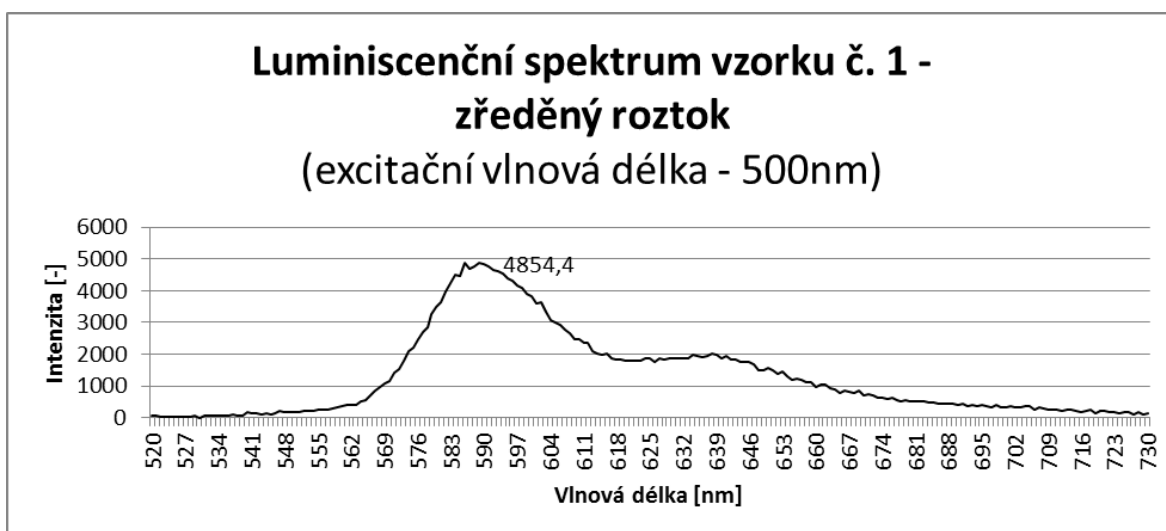
Tabulka 3 – Označení vzorků

Název inkoustu	Číslo vzorku	Barva	Zjištěná excitační vlnová délka (nm)	Poměr inkoust /destilovaná voda (ml/μl)
Diamine Quartz Black	1	Černá	500	2/2
Diamine Onyx Black	2	Černá	500	2/2
Diamine Jet Black	3	Černá	320	2/2
Diamine Majestic Blue	4	Modrá	320	2/10
LAMY Blue	5	Modrá	680	2/10
Pelican Royal Blue	6	Modrá	620	2/10



Graf 1 – Získané luminiscenční spektrum vzorku č.1 před zředěním

Na prvním grafu je možná vidět jen velmi slabá intenzita luminiscence měřeného vzorku, která je takřka neměřitelná. Po zředění poměrem 2ml destilované vody ku 2 μ l inkoustu dosahují však získaná data, znázorněná grafem 2, mnohem větší intenzity při hladším průběhu a jsou tak vhodnější pro srovnání jednotlivých vzorků.



Graf 2 – Získané luminiscenční spektrum vzorku č. 1 po zředění

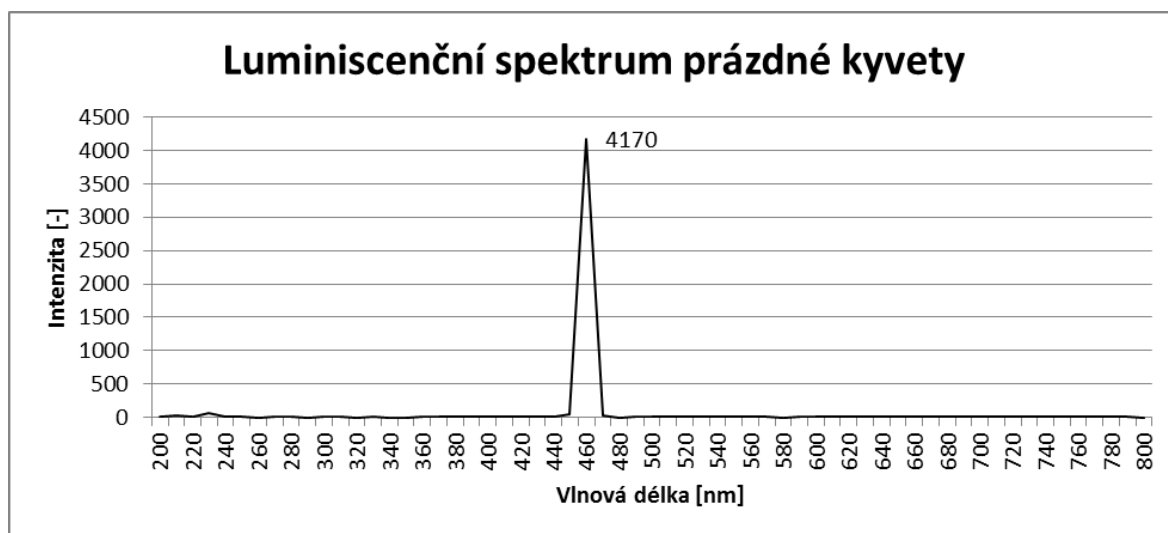
8 VÝSLEDKY A DISKUZE

8.1 Získaná data

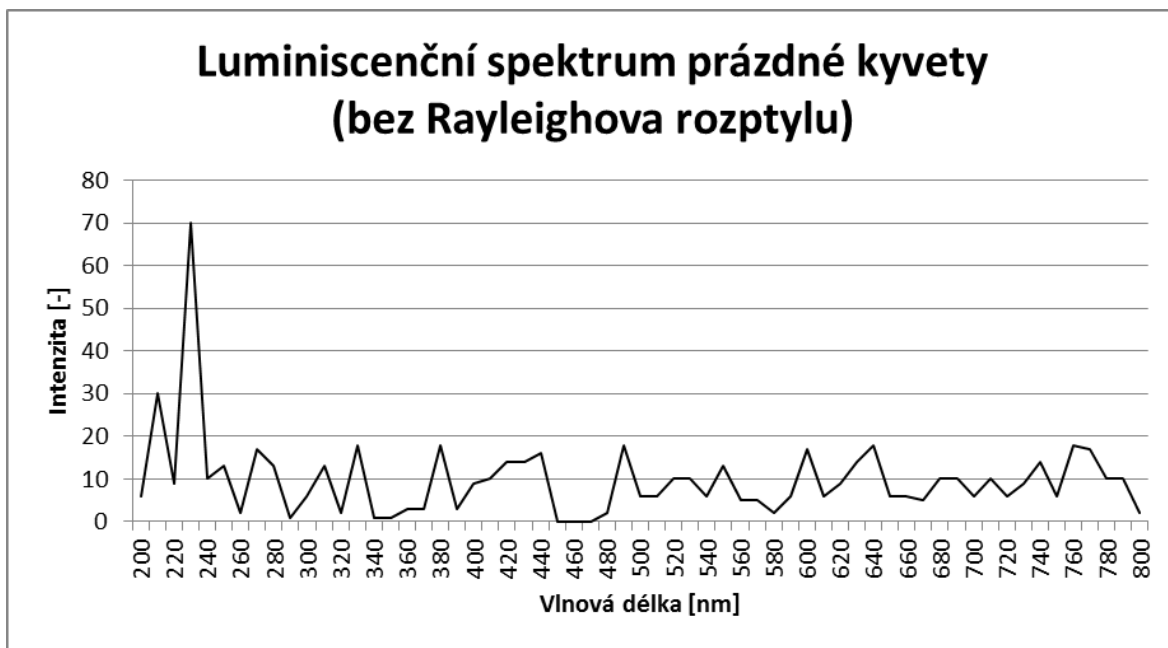
Aby byla měření co nejpřesnější, bylo nejprve třeba zjistit luminiscenční spektra všech použitých nástrojů a látek. V tomto případě se jednalo o kyvetu a destilovanou vodu. Výsledky měření ukázaly, že obě spektra nabírají zanedbatelných hodnot, které nemají vliv na měření luminiscenčních vlastností samotných inkoustů (Graf 3 – Graf 6). Dalším důležitým faktorem při zobrazování jednotlivých spekter byl Rayleighův rozptyl, který je podrobně popsán v teoretické části této práce. Měřené spektrum bylo proto nastaveno tak, aby eliminovalo vliv tohoto rozptylu, a výsledky tak byly jednoznačné. Rozdíl mezi výsledky s a bez přítomnosti Rayleighova rozptylu jsou pro upřesnění zobrazeny na následujících příkladech. Měřena byla intenzita luminiscence, což je počet fotonů procházejících v daném směru jednotkovou plochou za jednotku času. Veličina je tudíž bezrozměrná a udává se v jednotkách. Vlnová délka byla měřena v nanometrech (nm).

8.1.1 Nástroje a pomocné látky

- ❖ **Kyvetu** – výsledky měření a jejich vzájemné porovnání. Z výsledků je možné usoudit, jaká hodnota excitace byla zvolena. Pro kyvetu byla optimální hodnotou 460nm.

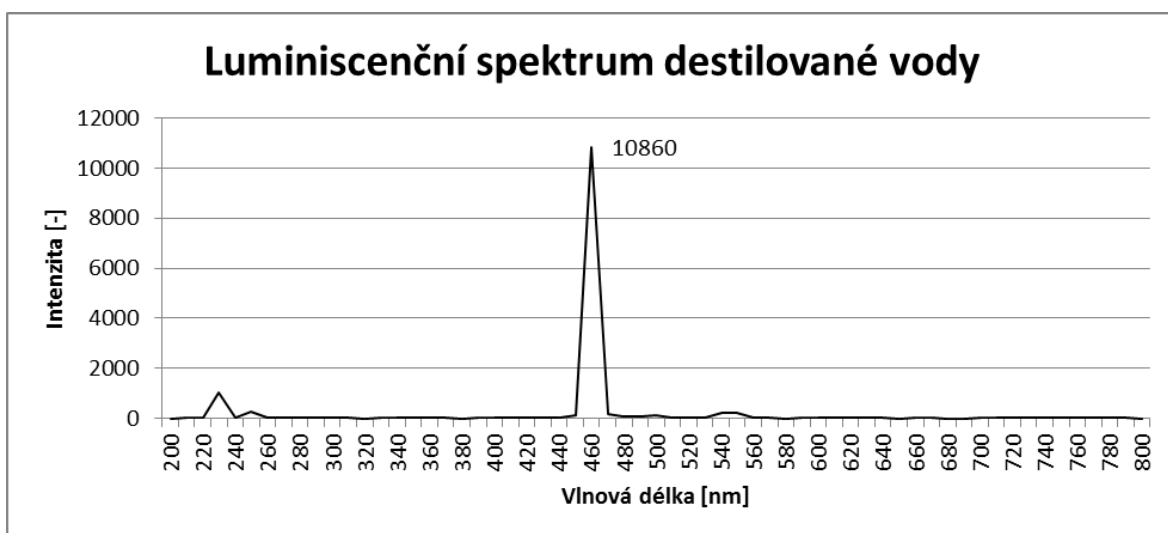


Graf 3 – Získané luminiscenční spektrum kyvety

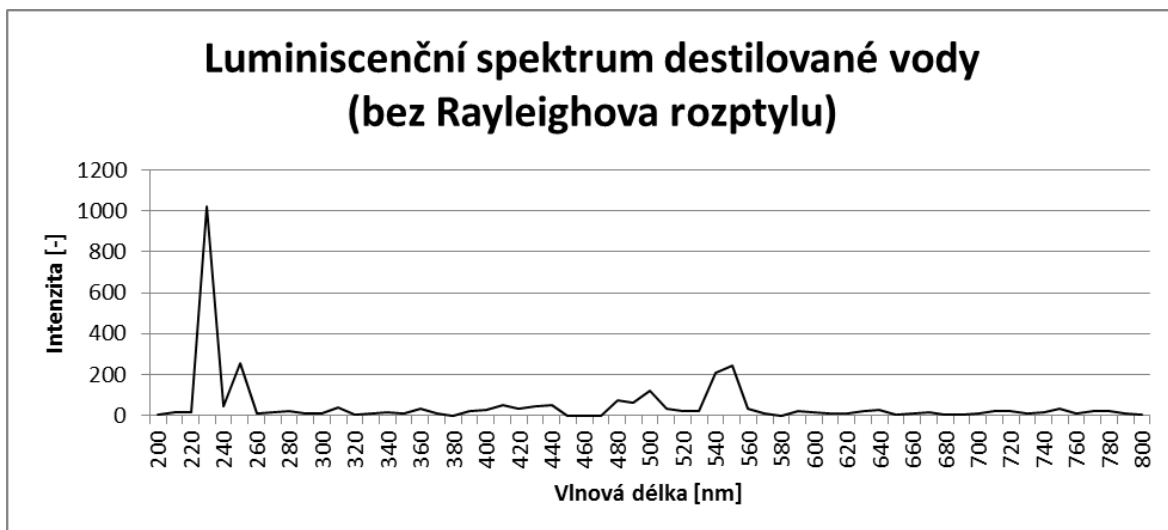


Graf 4 – Získané luminiscenční spektrum kyvety bez Rayleighova rozptylu

- ❖ **Destilovaná voda** - výsledky měření a jejich vzájemné porovnání. Pro co nejpřesnější srovnání byla u destilované vody stanovena stejná hodnota excitační vlnové délky, jako u kyvety. Naměřená data byla rovněž porovnána.



Graf 5 – Získané luminiscenční spektrum destilované vody včetně Rayleighova rozptylu

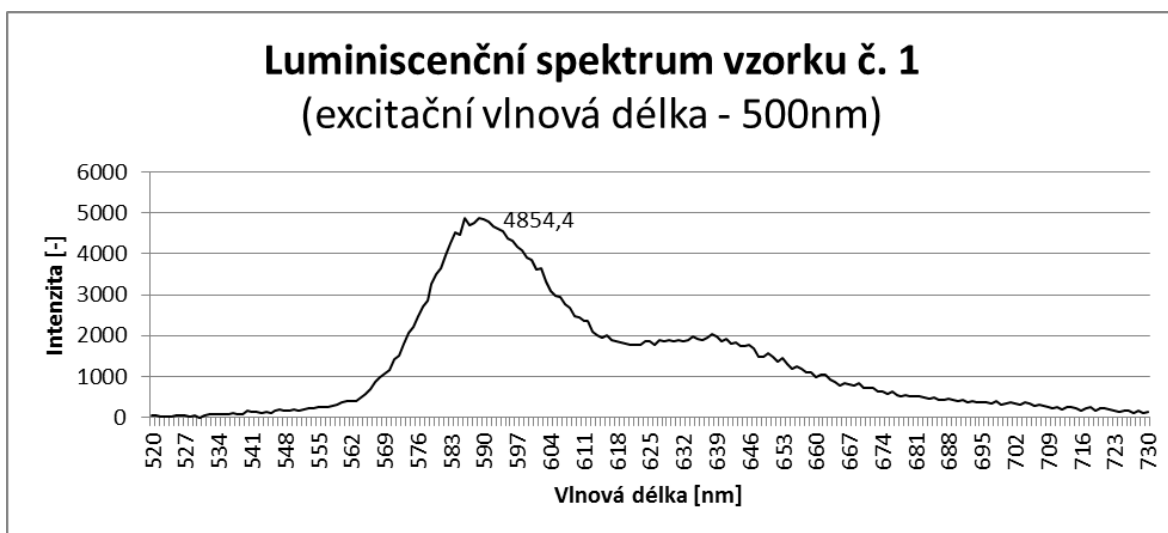


Graf 6 - Získané luminiscenční spektrum destilované vody bez Rayleighova rozptylu

8.1.2 Zkoumané vzorky

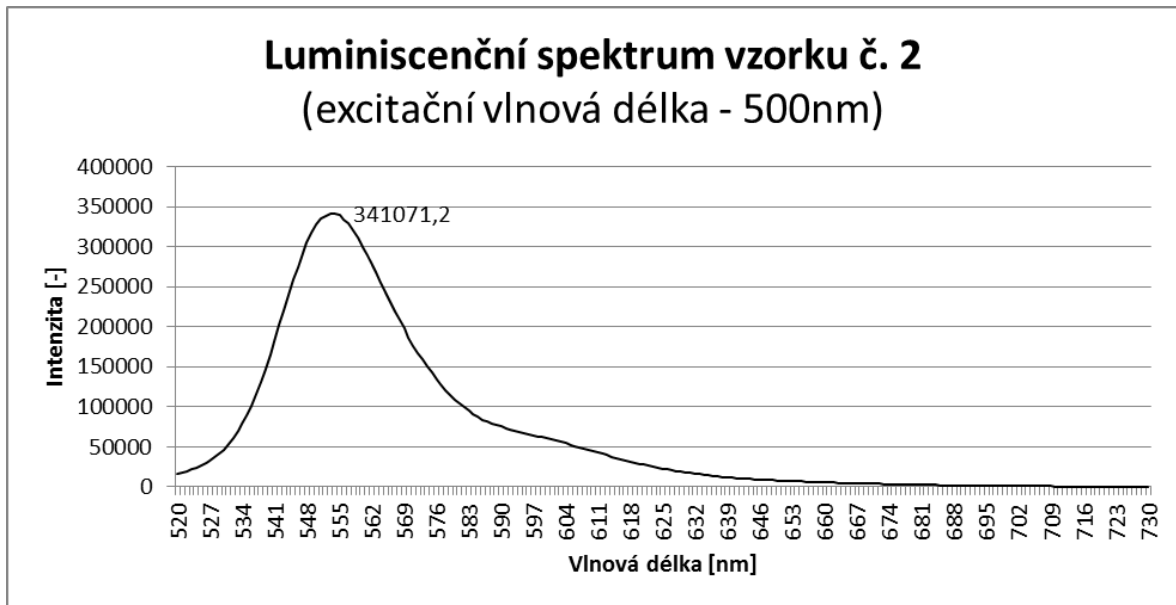
Hodnota excitační vlnové délky byla, pomocí výše zmíněných metod, stanovena zvlášť pro každý vzorek, aby bylo možné získat data o maximální intenzitě luminiscence. Výsledky jsou vyhodnoceny v závěrečné části této kapitoly.

❖ Vzorek č. 1 – Diamine Quartz Black



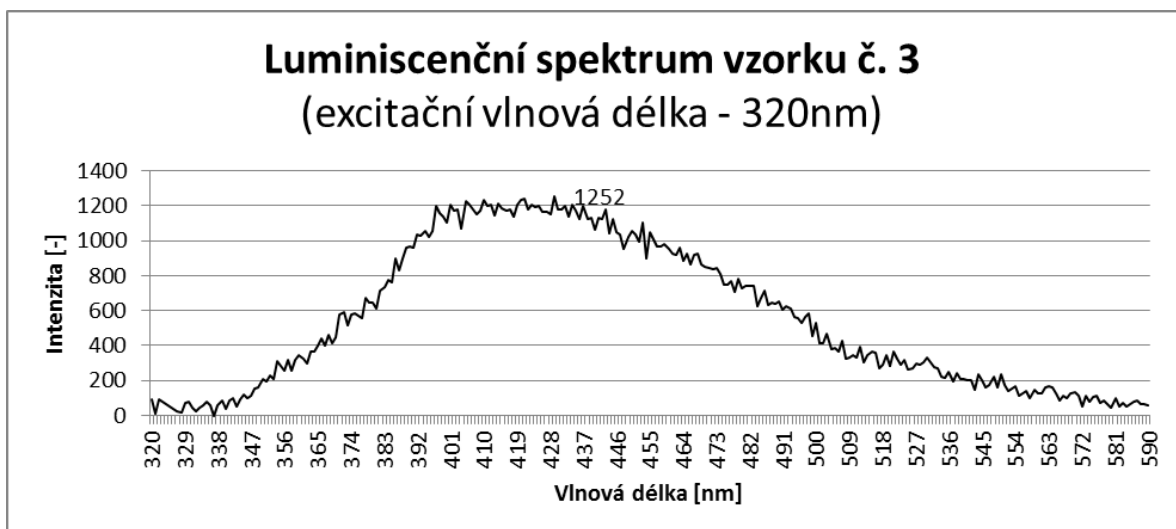
Graf 7 – Získaná intenzita luminiscence vzorku č. 1

❖ Vzorek č. 2 – Diamine Onyx Black



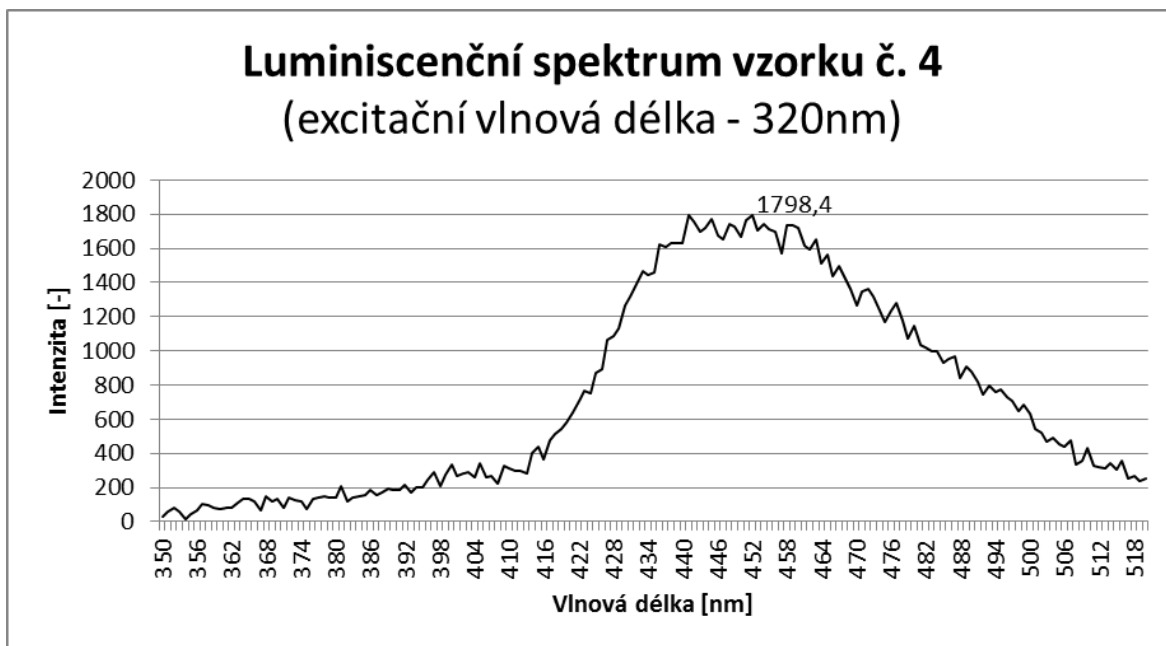
Graf 8 – Změřená intenzita luminiscence vzorku č. 2

❖ Vzorek č. 3 – Diamine Jet Black



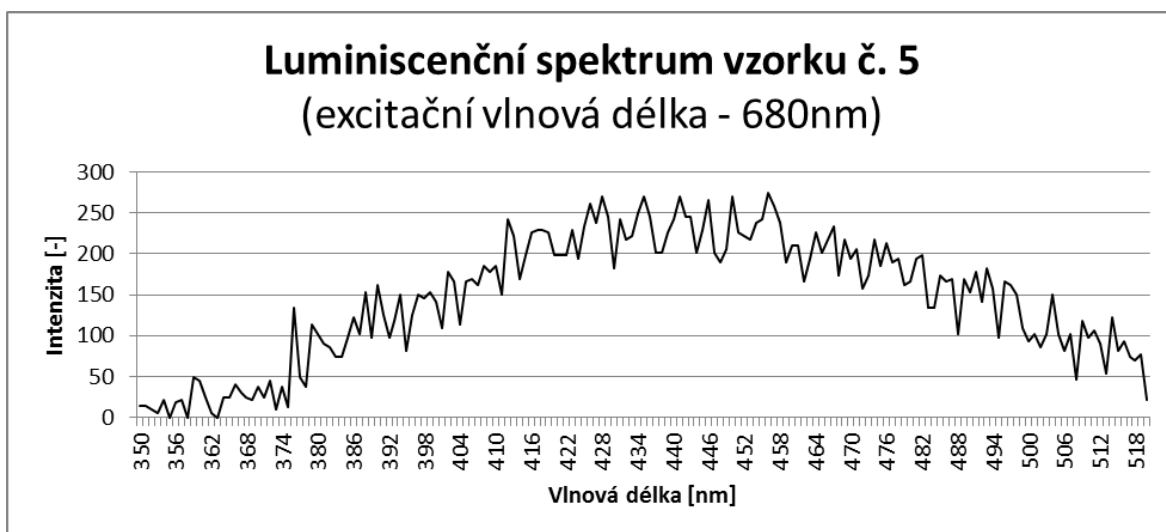
Graf 9 – Získaná intenzita luminiscence vzorku č. 3

❖ Vzorek č. 4 – Diamine Majestic Blue



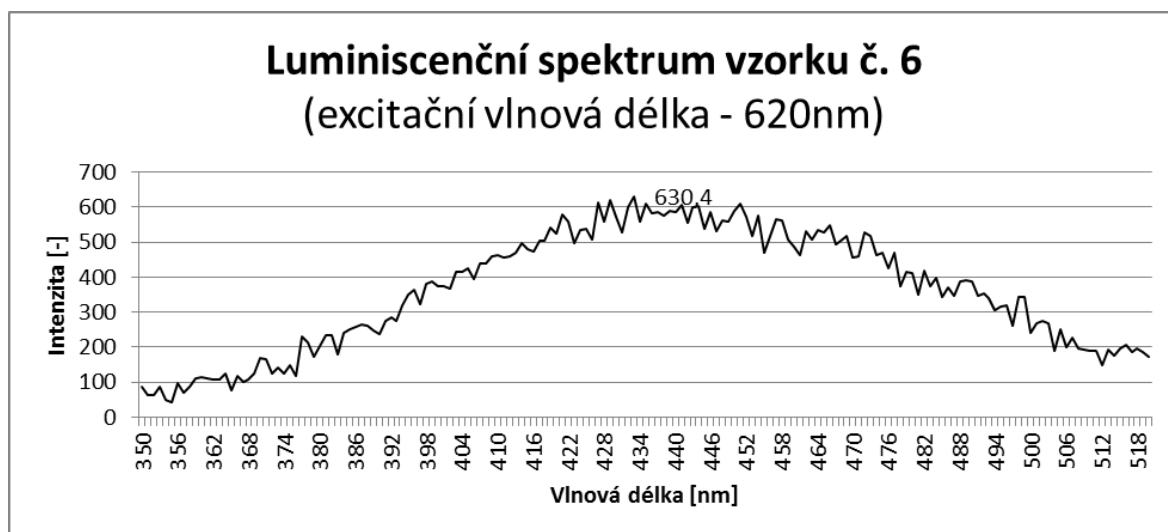
Graf 10 – Získaná intenzita luminiscence vzorku č. 4

❖ Vzorek č. 5 – LAMY Blue



Graf 11 – Získaná intenzita luminiscence vzorku č. 5

❖ Vzorek č. 6 – Pelican Royal Blue



Graf 12 – Získaná intenzita luminiscence vzorku č. 6

8.2 Diskuze

V praktické části této diplomové práce byl navržen experiment, jehož pomocí byly zkoumány luminiscenční vlastnosti inkoustů, především pak intenzita jejich luminiscence. Vybráno bylo celkem šest vzorků, jejichž výběr se odvíjel od popularity a zastoupení na trhu. Vzhledem k tomu, že byl k dispozici velmi výkonný spektrofluorometr PC1, byly vybrány inkousty velmi tmavých odstínů. Z toho tři černé a tři modré barvy. Porovnávány byly jak inkousty podobných odstínů jednoho výrobce, tak i od výrobců různých.

Po shromáždění, označení a připravení jednotlivých vzorků, bylo třeba se seznámit s ovládním a nastavením přístroje PC1 a navrhnout tak optimální metodu měření luminiscenčních vlastností kapalných vzorků inkoustů. Rovněž bylo třeba dodržovat všechny podmínky měření, aby byly výsledky co nejpřesnější. Pomocí manuálu byl přístroj optimálně nastaven a následovalo samotné měření.

Protože se výsledky nezředěných inkoustů nacházely v prakticky neměřitelném spektru, respektive bylo potřeba zředit inkousty do roztoků, pomocí destilované vody. Aby nedošlo k dezinterpretaci výsledků, byly samostatně změřeny spektra intenzity luminiscence pro destilovanou vodu i používanou kyvetu. Po zředění inkoustů již byly výsledky mnohem pozitivnější. Zajímavý je však fakt, že při porovnání s původním neředěným inkoustem se

měnila nejen intenzita luminiscence, ale i samotná křivka luminiscenčního spektra konkrétního inkoustu (viz Grafy 1 a 2).

Pro každý vzorek bylo potřeba najít optimální vlnovou délku excitace, pomocí postupu zmíněného v kapitole „Postup měření“, díky které byla zaznamenávána maximální míra emisního spektra. Vyhodnocením a porovnáním vzorků byly obdrženy překvapivé výsledky. Ze šesti zkoumaných inkoustů vyzařoval pouze jeden dostatečně průkaznou intenzitu luminiscence. Byl to inkoust Diamine Onyx Black – vzorek č. 2. Vzhledem k faktu, že oslovení výrobci nebyli ochotni poskytnout chemické složení vybraných inkoustů, a že ke stanovení přesného chemického složení vzorku nebyly k dispozici prostředky, není možné s úplnou přesností vysvětlit, proč právě tento inkoust disponoval tak vysokou intenzitou luminiscence oproti zbylým vzorkům.

Navzdory očekávání vyzařovaly černé inkousty řádově vyšší luminiscenci než inkousty modré. I tak se ale, s výjimkou vzorku č. 2, výsledná luminiscenční spektra pohybovala v řádech tisíců, což je pro využití ve forenzních vědách stále velmi slabou intenzitou.

8.2.1 Možnost aplikace metody ve forenzice

Vzhledem k tomu, že ze šesti zkoumaných vzorků, vyzařoval průkaznou luminiscenci pouze jeden z nich, je využitelnost zkoumání kapalných inkoustů pomocí luminiscenční spektroskopie ve forenzních vědách sporné. Na druhou stranu každý z inkoustů vyzařoval specifické luminiscenční spektrum, které by mohlo sloužit k jeho identifikaci. Tohoto faktu by se dalo následně využít k porovnávání více vzorků z různých zdrojů, nebo k ověřování pravosti. Nevýhodou však je nutnost dostatečného množství kapalného inkoustu, potřebného pro provedení měření, což se však dá vyřešit použitím destilované vody pro zředění v roztok.

Luminiscenční spektroskopie kapalného inkoustu je oproti jiným metodám měření, které vyžadují odebraný vzorek zkoumaného inkoustu, zcela nedestruktivní a nenáročnou metodou.

ZÁVĚR

V posledních letech zaznamenává luminiscenční spektroskopie prudký nárůst jejího uplatnění ve všech vědních oborech. Je to dáno zejména rychlým rozvojem elektroniky a stálým zdokonalováním měřících soustav. Pro tuto diplomovou práci bylo vybráno využití této metody ve forenzních vědách. K tomuto účelu byl navržen experiment, jehož pomocí byly zkoumány luminiscenční vlastnosti inkoustů. V práci jsou rovněž popsány všechny přidružené jevy a látky související s danou problematikou. Celý průběh měření se pak odehrával v laboratoři Fakulty aplikované informatiky Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně.

V teoretické části této práce jsou shrnuty nejdůležitější fyzikální jevy, na kterých je luminiscenční spektroskopie založena. V úvodní kapitole je nastíněna problematika elektromagnetického spektra, přičemž podrobněji popsána je právě ta jeho část, která se využívá při zkoumání luminiscenčních vlastností. Následující kapitola je pak zaměřena na samotný jev luminiscence a jejích přidružených jevů. Jsou zde zmíněny jak základní fyzikální principy, rozdělení a popis samotného jevu, tak i její praktické využití. Třetí kapitola se věnuje charakterizaci, rozdělení a složení inkoustů, přičemž důraz je kladen právě na ty složky a vlastnosti, které souvisí s problematikou luminiscence. Poslední kapitola teoretické části této práce potom popisuje konkrétní metody aplikace spektroskopie ve forenzice. K jednotlivým metodám jsou přiloženy i příklady z praxe, doplněné o obrazovou dokumentaci, pro vytvoření lepší představy o uplatnění těchto metod zkoumání.

Praktická část je zaměřena na volbu vhodného experimentu pro zkoumání luminiscenčních vlastností inkoustů. Pro účely této metody bylo vybráno šest vzorků kapalných inkoustů, které byly podrobeny měření intenzity jejich luminiscence. Kvůli hustotě jednotlivých vzorků je bylo nutné zředit destilovanou vodou, aby nedocházelo k pohlcení luminiscence okolním nezředěným inkoustem. Ze všech se nakonec projevila průkazná hodnota intenzity pouze u jednoho vzorku, a sice Diamine Onyx Black inkoustu. Luminiscenční spektra jednotlivých inkoustů se lišila, ale míra jejich intenzity byla nevyužitelná pro další možnosti aplikace ve forenzních vědách. Rozdíl spekter by však mohl posloužit k identifikaci jednotlivých inkoustů, nebo k jejich porovnávání. Nedestruktivita, nenáročnost a přesnost patří k hlavním přednostem této metody.

Široké spektrum možností přístroje PC1 však představuje dostatečný potenciál pro další zkoumání v tomto oboru, především v kombinaci s například Ramanovou spektroskopií nebo chromatografií.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PLŠKOVÁ, Pavlína - Dvoufotonová luminiscence a její aplikace pro ochranné značení výrobků. Dostupné z
<http://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/23421/pl%C5%A1kov%C3%A1_2012_dp.pdf?sequence=1> [on-line] [cit. 10.5.2015].
- [2] Mikroskopická technika. Dostupné z :
<<http://web.natur.cuni.cz/~parazit/parpages/mikroskopickatechnika/svetelnamikroskopie.htm>> [on-line] [cit. 20.5.2015].
- [3] EM spektrum Dostupné z :
<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9e/EM_spectrum_SK.jpg
[on-line] [cit. 26.4.2015]
- [4] EM spektrum. Dostupné z : <<http://digiarena.e15.cz/5-tipu-pro-foceni-mobilem-za-nedostatecneho-svetla>> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [5] <http://techmania.cz/edutorium/art_exponaty.php?xkat=fyzika&xser=456c656b74726f6d61676e657469636be920766c6e79h&key=690> [on-line] [cit. 20.4.2015]
- [6] <http://www.fraunhofer.de/content/dam/zv/en/press-media/2010/grossbild/md07_fo1g.jpg> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [7] <http://www.pion.cz/_sites/pion/upload/images/e72c573ab9c5c70fcd9c74dc4d618a7d_zareni-graf.jpg> [on-line] [cit. 20.5.2015]
- [8] VALÁŠEK, Pavel. Identifikace inkoustů s využitím Ramanovy spektroskopie. Bakalářská práce. UTB, FAI 2012 dostupné online: http://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/23204/val%C3%A1%C5%A1ek_2012_bp.pdf?sequence=1 [on-line] [cit. 22.5.2015]
- [9] Luminiscence. Dostupné z: <http://is.muni.cz/th/60001/lf_m/DP-prace_konecna.doc> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [10] <http://4.bp.blogspot.com/_-ChUe1LBdb4/SvanFluhtI/AAAAAAAAAAc8/cvPTKF9u7r8/s1600/UVA-UVB-UVC.gif> [on-line] [cit. 26.4.2015]

- [11] RTG záření . Dostupné z
<https://is.muni.cz/th/84466/pedf_m/rtg_zareni_diplomka.txt> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [12] <http://elektrika.cz/Members/mirek/13luxartmar_3.jpg> [on-line] [cit. 22.5.2015]
- [13] STRUMIENSKÝ, Jiří. Experimenty s infračerveným a ultrafialovým zářením. Brno, 2009. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Fakulta přírodovědecká, Ústav fyzikální elektroniky.
- [14] Luminiscence. Dostupné z: <<http://www.wikiskripta.eu/index.php/Luminiscence>> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [15] <<https://chessaleeinlondon.files.wordpress.com/2008/04/firefly.jpg>> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [16] PELANT, Ivan a Jan VALENTA. Luminiscenční spektroskopie. Vyd. 1. Praha: Academia, 2006, 328 s. ISBN 80-200-1447-0.
- [17] Luminiscenční spektroskopie. Dostupné z:
<http://web.natur.cuni.cz/~analchem/ssm/04_Luminiscencni_spektroskopie.pdf> [on-line] [cit. 20.4.2015]
- [18] <<http://www.blackjungleterrariumsupply.com/assets/images/glowmushrooms.jpg>> [on-line] [cit. 20.4.2015]
- [19] <<http://ottp.fme.vutbr.cz/users/pavelek/optika/0202.htm>> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [20] <https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=56238> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [21] <<http://i.ytimg.com/vi/EdBuzBX3dxQ/maxresdefault.jpg>> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [22] <<http://www.tech-faq.com/wp-content/uploads/2011/01/electroluminescence-556x560.jpg>> [on-line] [cit. 23.4.2015]
- [23] <<http://humourgloireetclarte.u.h.f.unblog.fr/files/2014/07/thermoluminescence.jpg>> [on-line] [cit. 21.5.2015]
- [24] <http://vega.fjfi.cvut.cz/docs/sfbe/opt_jevy/node15.html> [on-line] [cit. 26.4.2015]

- [25] <<http://fyzweb.cz/clanky/img/00212/uv.jpg>> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [26] <http://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/23421/pl%C5%A1kov%C3%A1_2012_dp.pdf?sequence=1> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [27] <https://digital.bsd.uchicago.edu/index_files/NanoZoomer%20fluorescence.jpg> [on-line] [cit. 30.4.2015]
- [28] The Scientific Examination of Documents- Methods and Techniques Dostupné z <https://www.crcpress.com/product/978084933925> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [29] <<http://ksicht.natur.cuni.cz/serialy/detektivni-chemie/2>> [on-line] [cit. 26.4.2015]
- [30] <http://www.uhalibuta.cz/fotky38052/clanky/jak_vidi_ryby/Vstiek.PNG> [on-line] [cit. 08.4.2015]
- [31] A survey of methods used in identification of inks. Dostupné z fsjournal.cpu.edu.tw/content/vol1.no.1/p1.pdf [on-line] [cit. 08.4.2015]
- [32] <http://fzp.ujep.cz/ktv/uc_texty/1IAME/7%20IAME-Chromat%20uvod.pdf> [on-line] [cit. 24.4.2015]
- [33] <<http://labmet.zshk.cz/vyuka/hplc.aspx>> [on-line] [cit. 19.5.2015]

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

A	Absorbce
c	Rychlost světla ve vakuu
CRT	Klasická obrazovka
HPLC	Vysokoučinná kapalná chromatografie
MSF	Mikrospektrofotometrie
OD	Optická délka
IR	Infračervená
SEM	Rastrovací elektronový mikroskop
UV	Ultrafialová
VM	Vzdálenost středu desky od startu
VR	Vzdálenost čela od startu
λ	Vlnová délka
ω	Úhlová frekvence záření,
I	Intenzita záření,
T	Teplota absolutně černého tělesa,,
k	Boltzmannova konstanta

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Schéma elektromagnetického spektra [3]	11
Obrázek 2 – Viditelná část elektromagnetického spektra [4]	12
Obrázek 3 – Snímek pořízen IR kamerou [6]	13
Obrázek 4 – Detailní zobrazení IR části elektromagnetického spektra [7]	14
Obrázek 5 – Jednotlivé části UV spektra – [10]	15
Obrázek 6 – Xenonová výbojka [12]	15
Obrázek 7 – Příklad luminiscence u hmyzu (světluška větší) [15]	17
Obrázek 8 - Příklad bioluminiscence u hub [18]	18
Obrázek 9 – Příklad chemiluminiscence [21]	20
Obrázek 10 - příklad elektroluminiscence [22]	21
Obrázek 11 – termoluminiscence keramiky [23]	24
Obrázek 12 – Jablonského diagram [28]	25
Obrázek 13 – Luminiscence české bankovky [25]	26
Obrázek 14 - Fluorescentní mikroskopie – plicní buňky [27]	27
Obrázek 15 – Schématické rozdělení inkoustů. [28]	28
Obrázek 16 - Absorbce a odraz záření [17]	30
Obrázek 17 – Typy psacích nástrojů [28]	32
Obrázek 18 – Detail hrotu kuličkového pera – [25]	33
Obrázek 19 – Princip rozdílu mezi plnicím a kuličkovým perem [28]	34
Obrázek 20 – příklad luminiscence padělaného bankovního šeku [28]	35
Obrázek 21 – Zobrazení vlnových délek jednotlivých barev [30]	37
Obrázek 22 – Stokesovy fotony [29]	39
Obrázek 23 – Mapa Vinlandu [28]	40
Obrázek 24 – Rozdíl dvou inkoustů v síle infračervené absorpce [28]	41
Obrázek 25 – Rozdíl inkoustů v jejich luminiscenčních vlastnostech [28]	44
Obrázek 26 – Rozdíl různých absorpčních vlastností rozdílných inkoustů [28]	46
Obrázek 27 – Ukázka aplikace luminiscence ve forenzice [31]	48
Obrázek 28 – Ukázka výsledku chromatografie na tenké vrstvě [32]	53
Obrázek 29 – Schéma HPLC [33]	55
Obrázek 30 – PC1 - ISS	58
Obrázek 31 – Schéma PC1 – ISS	60
Obrázek 32 – Kyveta 23/Q/10	61

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 – Získané luminiscenční spektrum vzorku č.1 před zředěním	65
Graf 2 – Získané luminiscenční spektrum vzorku č. 1 po zředění	65
Graf 3 – Získané luminiscenční spektrum kyvety	66
Graf 4 – Získané luminiscenční spektrum kyvety bez Rayleighova rozptylu	67
Graf 5 – Získané luminiscenční spektrum destilované vody včetně Rayleighova rozptylu.....	67
Graf 6 - Získané luminiscenční spektrum destilované vody bez Rayleighova rozptylu	68
Graf 7 – Získaná intenzita luminiscence vzorku č. 1	68
Graf 8 – Změřená intenzita luminiscence vzorku č. 2	69
Graf 9 – Získaná intenzita luminiscence vzorku č. 3.....	69
Graf 10 – Získaná intenzita luminiscence vzorku č. 4.....	70
Graf 11 – Získaná intenzita luminiscence vzorku č. 5.....	70
Graf 12 – Získaná intenzita luminiscence vzorku č. 6.....	71

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 – Specifikace PC1 - ISS.....	59
Tabulka 2 – Parametry kyvety 23/Q/10.....	60
Tabulka 3 – Označení vzorků.....	64

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA 1 : Naměřená data programem Vinci 2

PŘÍLOHA P I: VINCI 2 DATA